

Stanovení koncentrace DNA a proteinu pomocí mikrofluorometru

Materiál

- Quant-iT™ dsDNA BR Assay Kit, Quant-iT™ ssDNA Assay Kit, Quant-iT™ protein Assay Kit
- Standardy dsDNA, ssDNA a proteinu
- Vzorek dsDNA, ssDNA a proteinu o neznámé koncentraci
- Qubit mikroskopavky
- Mikrofluorometr Qubit™ (Invitrogen)

Postup

1. Připravte si cca 1 ml Working solution smícháním Quant-iT™ reagent a Quant-iT™ buffer v poměru 1:200 (1 μ l reagent : 200 μ l buffer) zvlášť pro ssDNA, dsDNA a protein
2. Připravte standardy smícháním 190 μ l Working solution + 10 μ l příslušného standardu #1 a #2 (#3 pro protein)
3. Připravte vzorek o neznámé koncentraci ve dvou mikroskopavkách smícháním 195 μ l Working solution + 5 μ l vzorku
4. Standardy i vzorky krátce promíchejte na vortexu (2-3 sec), opatrně - ve vzorku nesmí být bublinky!!
5. Inkubace 5-10 minut při laboratorní teplotě
6. Zapněte Qubit fluorometr, vyberte příslušnou metodu (metoda v přístroji musí mít stejný název jako kit, který používáte), nová kalibrace (standardy), poté změřte neznámý vzorek (od každé zkušavky 3 měření)

Pozn.: Měření by mělo probíhat za laboratorní teploty (22- 28°C). Teplota vzorků by měla být stejná, proto nedržte zkušavku se vzorkem před měřením dlouho v rukách, po každém měření zkušavku ihned vytáhněte z přístroje a mezi jednotlivými měřeními ji ponechte inkubovat alespoň 30 sec při laboratorní teplotě.

Výsledky

Stanovení koncentrace DNA a RNA v neznámých vzorcích.

