

Stanovení koncentrace DNA pomocí mikrofluorometru

Materiál

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

Postup

1. Připravte si cca 1 ml Pracovního roztoku smícháním příslušných Quant-iT™ reagent a Quant-iT™ buffer v poměru 1:200 (1 μ l reagent : 200 μ l buffer) zvlášť pro ssDNA a dsDNA
2. Připravte standardy smícháním 190 μ l Pracovního roztoku + 10 μ l příslušného standardu #1 nebo #2
3. Připravte vzorek o neznámé koncentraci ve dvou mikrozkušavkách smícháním 195 μ l Pracovního roztoku + 5 μ l vzorku
4. Standardy i vzorky krátce promíchejte na vortexu (2-3 sec), pozn.: ve vzorku nesmí být bublinky!!
5. Inkubace 5-10 minut při laboratorní teplotě
6. Zapnout Qubit™ fluorometr, vybrat příslušnou metodu (metoda v přístroji musí mít stejný název jako kit, který používáte), nová kalibrace (standardy), poté změřit 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 nadržte 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 dsDNA a ssDNA v neznámých vzorcích.

