

Protokoll: DNA-Färbung in Gelen mit dsGreen oder SYBR Green I

dsGreen, ein Analogon zu SYBR® Green I, ist ein Fluoreszenzfarbstoff, der insbesondere doppelsträngige DNA bindet. Es existieren drei Varianten des Färbeprotokolls: Gelfärbung nach dem Lauf, Vorfärbung des Gels und Probenvorfärbung.

Gelfärbung nach dem Lauf

Dies ist die herkömmliche Methode für Agarosegele und Polyacrylamidgele.

1. Trennen Sie die DNA-Moleküle in einer Agarose- oder Polyacrylamidgelelektrophorese auf.
2. Geben Sie in einem Becherglas 10 µl der 10.000× dsGreen-Lösung in DMSO zu 100 ml 1× TE-, TBE- oder TAE-Puffer (für Minigele) bzw. 50 µl der 10.000× dsGreen-Lösung zu 500 ml 1× TE-, TBE- oder TAE-Puffer (für mittelgroße Gele). Mischen Sie gründlich mit einem Spatel, Stab oder Magnetrührer.
3. Gießen Sie die verdünnte dsGreen-Lösung in eine geeignete Schale und legen Sie das Gel hinein.
4. Lassen Sie den Farbstoff fünf bis zehn Minuten lang in das Gel einziehen.
5. Betrachten bzw. dokumentieren Sie das Gel unter UV-Licht (254 nm) durch einen Orangefilter.

Vorfärbung des Gels

Diese Methode ist ausschließlich für **Agarosegele** geeignet, nicht jedoch für Polyacrylamidgele.

1. Lösen Sie die Agarose im Puffer durch Aufkochen in der Mikrowelle oder auf einer Heizplatte vollständig auf.
2. Lassen Sie die Gellösung abkühlen und geben Sie rechtzeitig bevor sie erstarrt 1 µl der 10.000× dsGreen-Lösung in DMSO pro 10 ml der Gellösung zu. Mischen Sie gründlich durch.
3. Gießen Sie die Lösung in den Gelträger und lassen Sie sie erstarren.
4. Um optimale Ergebnisse zu erzielen, geben Sie 1 µl der 10.000× dsGreen-Lösung pro 10 ml zum Puffer im Anodentank («+», rotes Kabel) hinzu.
5. Lassen Sie das Gel laufen und analysieren Sie die Proben. Die Live-Beobachtung der wandernden Banden unter UV-Licht ist möglich.
6. Betrachten bzw. dokumentieren Sie das Gel unter UV-Licht (254 nm) durch einen Orangefilter.

Probenvorfärbung

Dies ist die am wenigsten empfindliche, aber wirtschaftlichste Methode.

1. Mischen Sie 25 µl DMSO und 1 µl der 10.000× dsGreen-Lösung in DMSO.
2. Geben Sie 1 µl der Lösung zu einer jeden im Agarose- bzw. Polyacrylamidgel aufzutrennenden Probe.
3. Lassen Sie das Gel laufen und analysieren Sie die Proben. Die Live-Beobachtung der wandernden Banden unter UV-Licht ist möglich.
4. Betrachten bzw. dokumentieren Sie das Gel unter UV-Licht (254 nm) durch einen Orangefilter.

Lumiprobe Corporation

201 International Circle, Suite 135
Hunt Valley, Maryland 21030
USA
Phone: +1 888 973 6353
Fax: +1 888 973 6354
Email: order@lumiprobe.com

Lumiprobe GmbH

Feodor-Lynen-Strasse 23
30625 Hannover
Germany
Phone: +49 511 16596811
Fax: +49 511 16596815
Email: de@lumiprobe.com

Biotech Industry Ltd

Kotsyubinsky street, 4
121351 Moscow
Russian Federation
Phone: +7 800 775 3271
Email: ru@lumiprobe.com