

Requisits de les mostres per al Bioanalizador AGILENT 2100.

Per a realitzar electroforesi de ADN, RNA o proteïnes s'han de presentar les mostres en un tub eppendorf etiquetatge amb nom, data i volum.

Mostres de RNA

- Per a mostres de RNA total ha de tenir una concentració de 5-500 ng/ml.
- Per a mostres de mRNA ha de contenir una quantitat de 25-500 ng/ml.
- La concentració màxima del tampó de mostra ha de ser de 10mm tris-EDTA.
- S'utilitza 1 ml de mostra.
- Xip amb una capacitat de 12 gerres.

Mostres de ADN

- Hi ha diferents xips depenent de la grandària de ADN que es vullga visualitzar.
- La concentració de ADN a analitzar ha d'estar compresa entre 0.5-50 ng/ml.
- El rang dels fragments a visualitzar ha d'estar comprès en els rangs de cada un dels xips.
- Xip ADN 1000. Fragments en un rang de 50-1000 bp
- Xip ADN 7500. Fragments en un rang de 100-7500 bp

La concentració màxima de sal en les mostres ha de ser de 125 mM KCl o 15 mM MgCl₂. S'utilitza 1 ml de mostra. Xip amb una capacitat de 12 gerres.

Mostres de Proteïnes

- La grandària de les proteïnes a visualitzar ha d'estar comprès entre 14-200 kDa.
- La concentració ha d'estar entre 40-4000 ng/ml.
- S'utilitzen 4 ml de mostra.
- Xip amb una capacitat de 10 gerres.

Detergents Detergentes		Sals Sales		Altres additius Otros aditivos		Tampons Tampones	
2 % Dodecyl beta multicide	✓ (6)	500 mM NaCl	✓	4 M urea 7 M urea	✓	100 mM Tris-HCl	✓
0.5% Wittergen E3-14	✓ (6)	300 mM NH ₄ HCO ₃ pH 8	✓	600 mM guanidine	✓ (1)	10 mM sodium phosphate	✓
0.1 % Tween 20 Tween 80	✓	300 mM KCl 600 mM KCl	✓ (1) ✓ (1)	20% Ethanol	✓	100 mM MOPS	✓
1% Triton X-100	✓ (6)	20 mM NaAc	✓	100 mM DTT	✓	25 mM PIPES	✓
1 % Sarcosyl	✓ (5)	25 mM NaF	✓	30 % Glycerol	✓	PBS (Dulbecco's)	✓
1% SDS	✓ (6)			0.04 % NaN ₃	✓	250mM Tris / 20 mM glycine	✓
1% CHAPS	✓ (4,6)	Azúcares:		0.1% TFA	✓ (2,3)	20 mM phosphate / 15 mM NaCl	✓
		4% w/w sucrose 200 mM sucrose	✓ ✓	1 % PEG 3350 (polyethylen glycol)	✓	150 mM Na-citrate / 100 mM Tris	✓
		5 % Mannitol	✓	250 mM imidazole	✓	50 mM MES	✓
				10 mM EDTA	✓	100 mM Tris-bis-propane, pH 8	✓
				Protease inhibitor cocktail (100x diluted Sigma)	✓	25 mM HEPES / 150 mM NaCl	✓
				20% ACN	✓ (3)	50 mM NaH ₂ PO ₄ , 300 mM NaCl, 250mM Imidazole	✓
						10 mM HEPES	✓

(1) Precipita SDS

(2) Canvia la migració de l'albumina, ha de ser evaporada

(3) Pot precipitar SDS, ha de ser evaporada

(4) Dóna senyal baixa, el marcador superior desapareix

(5) Apareix un pic negatiu entre 14-19 kDa

(6) Dóna un pic que se superposa amb el marcador inferior afectant l'assignació de grandària

Requisitos de las muestras para el Bioanalizador AGILENT 2100.

Para realizar electroforesis de DNA, RNA o proteínas se deben presentar las muestras en un tubo eppendorf etiquetado con nombre, fecha y volumen.

Muestras de RNA

- Para muestras de RNA total debe tener una concentración de 5-500 ng/ μ L.
- Para muestras de mRNA debe contener una cantidad de 25-500 ng/ μ L.
- La concentración máxima del tampón de muestra debe ser de 10mM tris-EDTA.
- Se utiliza 1 μ L de muestra.
- Chip con una capacidad de 12 pocillos.

Muestras de DNA

- Existen diferentes chips dependiendo del tamaño de DNA que se quiera visualizar.
- La concentración de DNA a analizar ha de estar comprendida entre 0.5-50 ng/ μ L.
- El rango de los fragmentos a visualizar ha de estar comprendido en los rangos de cada uno de los chips.
- Chip DNA 1000. Fragmentos en un rango de 50-1000 bp
- Chip DNA 7500. Fragmentos en un rango de 100-7500 bp

La concentración máxima de sal en las muestras debe ser de 125 mM KCl o 15 mM MgCl₂. Se utiliza 1 μ L de muestra. Chip con una capacidad de 12 pocillos.

Muestras de Proteínas

- El tamaño de las proteínas a visualizar ha de estar comprendido entre 14-200 kDa.
- La concentración debe estar entre 40-4000 ng/ μ L.
- Se utilizan 4 μ L de muestra.
- Chip con una capacidad de 10 pocillos.

Detergentes		Sales		Otros aditivos		Tampones	
2 % Dodecyl beta multicide	✓ (6)	500 mM NaCl	✓	4 M urea 7 M urea	✓	100 mM Tris-HCl	✓
0.5% Wittergen E3-14	✓ (6)	300 mM NH ₄ HCO ₃ pH 8	✓	600 mM guanidine	✓ (1)	10 mM sodium phosphate	✓
0.1 % Tween 20 Tween 80	✓	300 mM KCl 600 mM KCl	✓ (1) ✓ (1)	20% Ethanol	✓	100 mM MOPS	✓
1% Triton X-100	✓ (6)	20 mM NaAc	✓	100 mM DTT	✓	25 mM PIPES	✓
1 % Sarcosyl	✓ (5)	25 mM NaF	✓	30 % Glycerol	✓	PBS (Dulbeco's)	✓
1% SDS	✓ (6)			0.04 % NaN ₃	✓	250mM Tris / 20 mM glycine	✓
1% CHAPS	✓ (4,6)	Azúcares:		0.1% TFA	✓ (2,3)	20 mM phosphate / 15 mM NaCl	✓
		4% w/w sucrose 200 mM sucrose	✓ ✓	1 % PEG 3350 (polyethylen glycol)	✓	150 mM Na-citrate / 100 mM Tris	✓
		5 % Mannitol	✓	250 mM imidazole	✓	50 mM MES	✓
				10 mM EDTA	✓	100 mM Tris-bis-propane, pH 8	✓
				Protease inhibitor cocktail (100x diluted Sigma)	✓	25 mM HEPES / 150 mM NaCl	✓
				20% ACN	✓ (3)	50 mM NaH ₂ PO ₄ , 300 mM NaCl, 250mM Imidazole	✓
						10 mM HEPES	✓

- (1) Precipita SDS
- (2) Cambia la migración de la albúmina, debe ser evaporada
- (3) Puede precipitar SDS, debe ser evaporada
- (4) Da señal baja, el marcador superior desaparece

- (5) Aparece un pico negativo entre 14-19 kDa
- (6) Da un pico que se superpone con el marcador inferior afectando a la asignación de tamaño