

Hybridizační roztok pro Southernovu a Northernovu hybridizaci

Složení:

- 5X SSC
- 50% deionizovaný formamid
- 1X Denhardtův roztok
- 10 % dextran sulfát
- 20 mM fosfát sodný
- DNA lososích spermií (100 µg/ml)

Hazard:

formamid: podezření na karcinogenní a teratogenní účinky, poškození orgánů



kyselina fosforečná: korozivní, žíravá



Skladování: při -20 °C

Postup při přípravě:

- smíchejte:
 - 50 ml deionizovaného formamidu
 - 25 ml 20X SSC
 - 1 ml 100X Denhardtův roztok
 - 2 ml 1M fosfát sodný (pH 6,7)**
- doplňte dH₂O do 97,5 ml
- alikvotujte a zamrazte v -20 °C
- před použitím zahřejte na 65°C a doplňte denaturovanou* DNA lososích spermií na finální koncentraci 100 µg/ml a případně vodou upravte na potřebný finální objem

* denaturace je prováděna inkubací DNA po dobu 3 min při 95-100 °C a následně rychlým přenesením na led na dobu alespoň 1 minuty.

**Příprava 1M fosfátu sodného:

- rozpustíte 14,19 g Na₂HPO₄ v 80 ml dH₂O
- upravte pH na 6,7 kyselinou fosforečnou
- doplňte dH₂O do 100 ml a skladujte při pokojové teplotě

- přidavek formamidu do hybridizačního roztoku umožní snížení hybridizační teploty na 42 °C