

Как подобрать стандарты длин для фрагментного анализа?

Стандарты длин (маркеры молекулярного веса) позволяют определять относительный размер анализируемых фрагментов ДНК. Для этого их смешивают с каждым образцом и анализируют в одном капилляре в одинаковых условиях.

Стандарт длин представляет собой смесь фрагментов ДНК известной длины, каждый из которых мечен флуоресцентным красителем. Например, стандарт может содержать 24 фрагмента с длинами от 50 до 600 нуклеотидов.

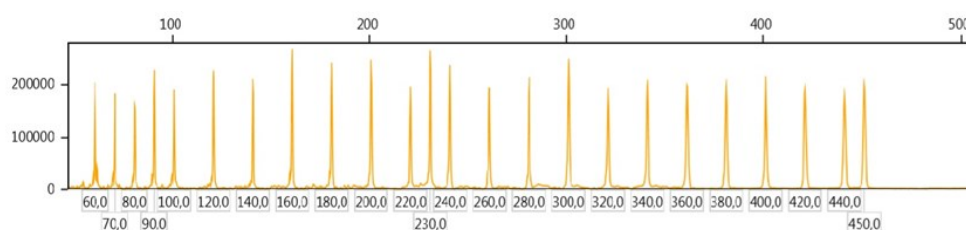


Рисунок 1. Стандарт длин СД-450 (Синтол)

Выбор стандарта длин зависит от ожидаемого диапазона размеров фрагментов. Если фрагменты образца выходят за пределы диапазона стандарта, их длины нельзя будет определить точно, потому что будет не с чем сравнивать. Так, алгоритм Local Southern определяет размеры фрагментов с помощью обратной связи между длиной фрагмента и подвижностью. Чем длиннее фрагмент, тем медленнее он движется в капилляре. Эта зависимость нелинейна: для разных диапазонов длин она разная. Алгоритм Local Southern использует не одну общую калибровочную кривую, а строит локальные калибровочные кривые по ближайшим пикам стандарта — одна кривая использует два пика ниже и один выше анализируемого фрагмента, вторая — один ниже и два выше. Полученные значения усредняются, и это позволяет точнее определять длины.

При этом на электрофореграмме образца должно быть минимум по 2 пика стандарта длин слева и справа от анализируемого фрагмента.

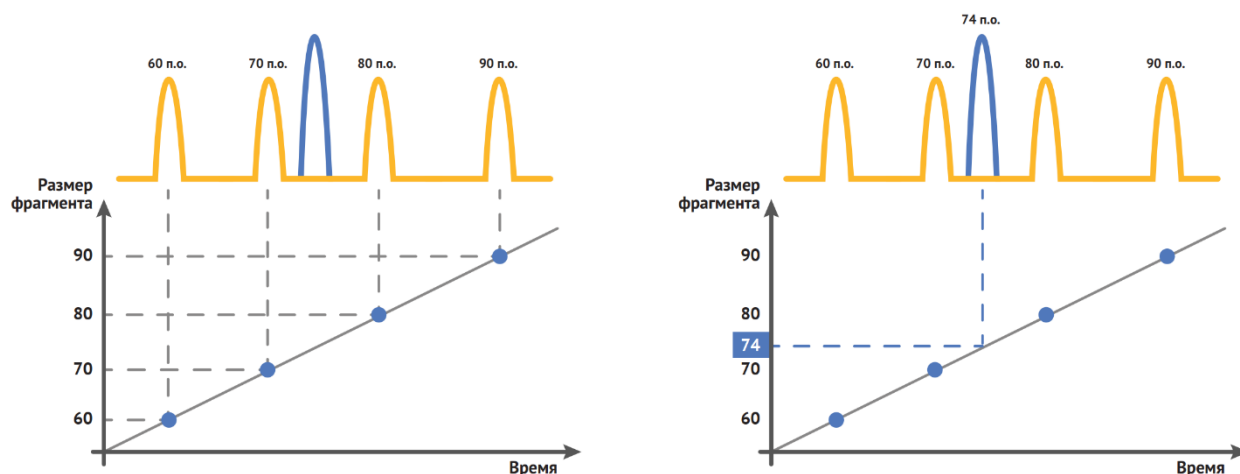


Рисунок 2. Схематическое отображение алгоритма определения размера фрагмента (синий пик) по калибровочной кривой маркера молекулярного веса (оранжевые пики).

Также при выборе стандарта длин важно учитывать совместимость между флуоресцентным красителем, которым мечен стандарт, красителями, которыми мечены образцы и спектральной калибровкой прибора.

Спектральная калибровка прибора должна включать все красители, которыми мечены образцы и стандарт длин.

Компания «Синтол» предлагает несколько вариантов стандартов для работы с фрагментами разной длины: СД-340, СД-450, СД-520, СД-600 и СД-1200.

Информация для заказа

Кат. номер	Название
СД-340	Маркер молекулярного веса СД-340 (канал LIZ)
СД-450	Маркер молекулярного веса СД-450 (канал LIZ)
СД-520	Маркер молекулярного веса СД-520 (канал LIZ)
СД-600	Маркер молекулярного веса СД-600 (канал LIZ)
СД-1200	Маркер молекулярного веса СД-1200 (канал LIZ)



ООО «НПФ Синтол» | 127550, Москва, Тимирязевская, 42
т (495) 984-6993 многоканальный | syntol@syntol.ru