

产品名称: dsDNA Quantification Reagent (Green)

双链 DNA 定量试剂 (绿色)

产品货号: RA20042

基本信息

中文名称	dsDNA Quantification Reagent (Green) 双链 DNA 定量试剂 (绿色)
英文名称	dsDNA Quantification Reagent (Green)
产品规格	1mL
存储条件	4°C, 避光保存
运输条件	低温
有效期	12 个月
激发/发射波长	480/520nm

产品介绍

dsDNA Quantification Reagent (Green)是荧光检测 dsDNA 并进行定量的一种产品, 这种方法非常灵敏。常用于分子生物学技术: cDNA 文库的构建、亚克隆的 DNA 片段纯化及应用, 比如进行 DNA 定量、产物扩增和引物的进一步检测。常规的 DNA 含量的检测方法是在 260 nm 处测其吸光值。这种方法的主要缺点是核苷酸、单链核酸和蛋白质对信号的影响很大, 并且还会受到核酸制备过程中污染物的干扰, 无法区分 DNA 和 RNA, 而且这种方法不灵敏 (5 $\mu\text{g/mL}$ dsDNA 溶液 $A_{260}=0.1$)。dsDNA Quantification Reagent (Green)定量检测方法简单、方便, 成为生物制品残留 DNA 检测的标准。

dsDNA Quantification Reagent (Green)只有与 dsDNA 结合后才发出荧光, 并且所发荧光强度与 DNA 浓度成正比。dsDNA Quantification Reagent (Green)可以检测出 25 pg/mL -1000 ng/mL 范围内的 dsDNA, 且线性关系较好($R^2>0.99$)。

试剂制备

dsDNA Quantification Reagent (Green)定量试剂是以 1 mL 的浓缩液形式保存在无水的 DMSO (二甲基亚砜) 中。实验时, 配制 2 $\times$ dsDNA Quantification Reagent (Green)工作液: 将浓缩液用 1 $\times$ TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 7.5) 按 1:200 的比例稀释。对于终体积为 200 μL 的检测体系, 如需准备足够 20 个样品测定的工作液, 可在 1.99 mL 1 $\times$ TE 中加入 10 μL dsDNA Quantification Reagent (Green); 对于终体积为 2 mL 的检测体系, 如需准备足够 20 个样品测定的工作液, 则需要在 19.9 mL 1 $\times$ TE 中加入 100 μL dsDNA Quantification Reagent (Green)浓缩液。由于试剂容易吸附到玻璃表面, 要在塑料容器中配制。dsDNA Quantification Reagent (Green)见光易降解, 因此要注意避光保存。

溶液最好在配制好数小时内使用, 以保证最佳结果。

产品名称: dsDNA Quantification Reagent (Green)

双链 DNA 定量试剂 (绿色)

产品货号: RA20042

实验步骤

1. 标准品工作液的配制:

Sigma 小牛胸腺 DNA 干粉 1 mg (Tris, NaCl 等浓度已成标准体系), 加入 1 mL 双蒸水, 配制成 1 mg/mL 的标准液。

2. 染料工作液的配置:

5 μ L dsDNA Quantification Reagent (Green)加入 0.995 mL TE (注意: 用 1 $\times$ TE 将 dsDNA Quantification Reagent (Green)稀释 200 倍, 现用现配, 注意避光)。

3. 标准液稀释:

(1) 母液稀释: 取 10 μ L (1 mg/mL) 标准液加入到 990 μ L TE 溶液中, 稀释成 10 μ g/mL, 取 10 μ L (10 μ g/mL) 标准液加入到 990 μ L TE 溶液中, 稀释成 100 ng/mL。

(2) 倍比稀释: 取 800 μ L (100 ng/mL) 的标准液加入到 200 μ L TE 溶液中, 浓度为 80 ng/mL, 取 500 μ L (80 ng/mL) 的标准液加入到 500 μ L TE 溶液中, 稀释到 40 ng/mL; 依次倍比稀释, 配成 20 ng/mL、10 ng/mL、5.0 ng/mL、2.5 ng/mL。

4. 标准曲线的制备:

倍比稀释后的各梯度标准品溶液和染料工作液各取 100 μ L 混匀, 避光室温放置 5 min。使用 FB-15 型便携式荧光仪检测样品的荧光值: 将混合后的溶液加入微量比色皿, 注意不要在样品中引入气泡, 轻弹微量检测皿的外部, 可以驱散气泡。以 1 $\times$ TE 缓冲液为空白对照, 测定样品和空白对照的荧光值; 或者直接用 96 孔板进行荧光检测, 激发波长 480 nm, 发射波长 520 nm, 用标准品溶液的浓度 (ng/mL) 对应的荧光强度作直线回归, 制备标准曲线。

5. 测量待测样品的荧光值。根据制作的 DNA 浓度的标准曲线, 计算待测样品浓度。

备注: 该试剂仅供科研使用!