

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01056

产品介绍

MarveBlue X-Green II dsDNA HS 定量试剂盒效能等同于 Quant-iT™ PicoGreen™ dsDNA Assay Kits, X-Green II 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 $A_{260} = 0.1$)。X-Green II 定量方法简单、方便,成为生物制品残留 DNA 检测的标准。

X-Green II 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 X-Green II 双链 DNA 定量试剂盒升级版可以检测出 $25 \text{ pg/mL} \sim 1000 \text{ ng/mL}$ 范围内的 dsDNA,且线性关系较好 ($R^2 > 0.99$)。

应用范围

dsDNA 定量、NGS 二代测序、文库构建

储运条件

4°C 避光保存,有效期见外包装;对于长期储存, $20 \times \text{Buffer}$ 和 dsDNA 标准液可以储存在 $\leq -20^\circ\text{C}$ 。冰袋运输。

产品特点

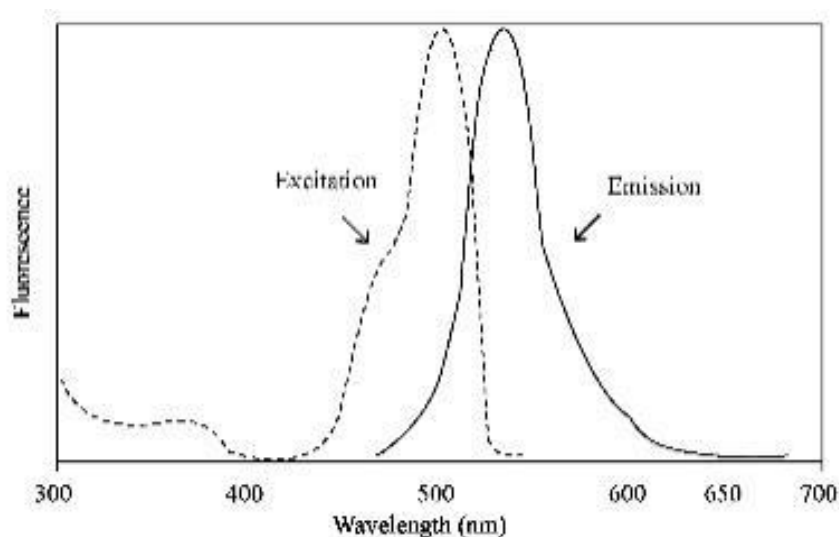
特异性好: 特异性结合 dsDNA,对常规污染物具有耐受性;

灵敏度高、线性范围广: 版可以检测出 $25 \text{ pg/mL} \sim 1000 \text{ ng/mL}$ 范围内的 dsDNA,且线性关系较好 ($R^2 > 0.99$)。

产品参数

Ex/Em: $480/520 \text{ nm}$ (结合 dsDNA)

光谱图:



注意事项

- 1.使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
- 2.荧光染料均存在淬灭问题，请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。
- 3.X-Green II 工作液最好现配现用，以保证最佳结果。
- 4.本产品仅限于科研，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 5.为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

自备材料

- 1.耗材
- 96 孔酶标板
- 2.仪器
- 多功能酶标仪

操作步骤

1.试剂制备

X-Green II 是以 1 mL 的浓缩液形式保存在有机溶剂中。实验时，配制 2 × X-Green II 工作液：将组分 A 用 1 × Buffer (组分 B 稀释 20 倍) 按 1：200 的比例稀释。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，可在 19.9 mL 1 × Buffer 中加入 100 μL 组分 A；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 × Buffer 中加入 10 μL 组分 A。由于试剂容易吸附到玻璃表面，要在塑料容器中配制。组分 A 试剂见光易降解，因此要注意避光保存。

注：溶液最好在配制好的数小时内使用，以保证最佳的实验结果。

2.实验方法

- (1) 用无菌水将组分 B 稀释成 1 × Buffer。如制备 50 mL 1 × Buffer，需要将 2.5 mL 组分 B 加入到 47.5 mL 无菌水中。
- (2) 稀释 DNA 标准品，制作标准曲线。用 1 × Buffer 将组分 C 由 100 μg/mL 稀释至 2 μg/mL。如取 40 μL 组分 C，加入 1.96 mL 无菌水。对于低浓度的标准曲线，可以把 2 μg/mL 的 DNA 标准品稀释 40 倍，制备 50 ng/mL 的 DNA 储液，然后再进一步稀释。具体稀释方法可参照表 1、表 2。

表 1 宽线度标准曲线制备

Volume (μL) of Buffer	Volume (μL) of 2 μg/ mL DNA stock	Final DNA Concentration in X-Green II Assay
0	1000	1 μg/mL
900	100	100 ng/mL
990	10	10 ng/mL
999	1	1 ng/mL
1000	0	blank

表 2 低浓度标准曲线制备

Volume (μL) of Buffer	Volume (μL) of 50 ng/ mL DNA stock	Final DNA Concentration in X-Green II Assay
0	1000	25 ng/mL
900	100	2.5 ng/mL
990	10	250 pg/mL
999	1	25 pg/mL
1000	0	blank

- (3) 对于每个未知样品, 将 1~10 μL 样品与 99~90 μL 的 $1 \times \text{Buffer}$ 混匀, 加入微孔板孔中检测。
- (4) 用 $1 \times \text{Buffer}$ 按照 1: 200 稀释组分 A, 制备 $2 \times \text{X-Green II}$ 工作液。对于每个标准品和每个未知样品, 都需要 100 μL 的体积。确定要测试的样品和未知样品的总数, 并将该数值乘以 100 μL , 即为所需稀释的 X-Green II 试剂的总体积。X-Green II 对光敏感, 融化和稀释时要注意避光操作。
- (5) 添加 100 μL 稀释的 X-Green II 工作液到每个标准和样品孔。吹吸三次混匀。
- (6) 用锡箔纸覆盖微板, 并在室温下孵育 5 min。
- (7) 读取数据, 取平均值生成标准曲线, 并确定未知样品 DNA 的浓度。