

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01054

产品介绍

MarveBlue dsDNA BR 定量试剂盒可以在 200 μL 体系内定量 2~2000 ng 的 dsDNA。不同于常规的基于吸光度的测量,这款试剂盒可以区分 dsDNA、ssDNA 或 RNA,有选择性地检测 dsDNA (见图 2)。与传统 DNA 定量方法相比,该产品具有检测范围广、高灵敏度、高特异性等优点。试剂盒主要包含 WonderBlue® Broad Range dsDNA Quantitation Buffer、Dye solution、Enhancer solution 以及 pre-diluted dsDNA Standards 四个组分。此外,试剂盒还可以将其他污染物的影响降低至最低,可以耐受常规污染物例如蛋白质、盐、有机溶剂和洗涤剂等。

应用范围

dsDNA 定量、NGS 二代测序、文库构建

储运条件

2~8 ℃ 避光保存,有效期见外包装;冰袋运输。

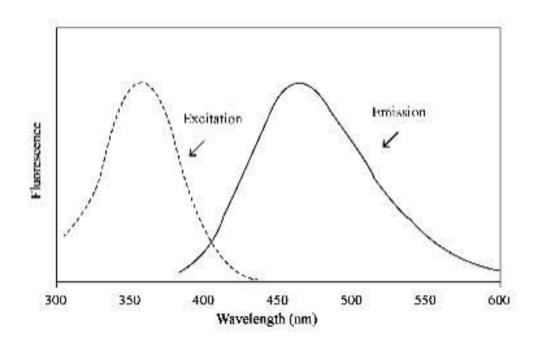
产品特点

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、检测范围广: 可以在 200 μL 体系内定量 2~2000 ng 的 dsDNA。

产品参数

光谱图:



https://www.med-life.cn Hot line:400-086-2158



注意事项

- 1.对于要检测的植物或动物来源的 DNA 样本,小牛胸腺 DNA (Calf thymus DNA) 常常作为制作 DNA 标样的参照物。因为 Calf thymus DNA 具有双链结构、高度聚合、碱基分配均匀 (AT 含量 58%, GC 含量 42%)。如果检测样品的荧光值超过了标准曲线,那么需要将样品做进一步稀释处理。为了保持结果的一致性,务必使每孔上样量均等,且不含有其他高浓度的污染物。
- 2.MarveBlue dsDNA BR 定量试剂盒 可以测量范围在 $2\sim2000~ng$ 的 dsDNA。对于一些不需要线性检测的样品,试剂盒检测范围可以扩展至 4000~ng。如需检测更低含量的样品,您可以将 DNA 标样用 $1\times TE$ 缓冲液做进一步的稀释,浓度可以稀释到 $0.2~ng/\mu L$,然后按照常规程序每孔 $10~\mu L$ 上样。
- 3.对于不同种类的检测仪器,您可以优化仪器设置,以获取最佳线性度。一些可能会影响最终线性度和相对荧光强度的因素有:激发和发射波长与带宽;截止型滤波器;灵敏度设置;移液的准确性;微孔板制造商。
- 4.使用前请将产品瞬时离心至管底,再进行后续实验。
- 5. 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。
- 6.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。
- 7.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.为了得到最佳结果,请使用精确校准的移液器和去 RNA 酶的枪头、试管以及检测板。建议每个 DNA 标样和未知样品都设定 3 个复孔。如果检测时不止一块 96 孔板,建议每块 96 孔板都设定一条标准曲线,尽量减少检测板之间的误差。
- 2.使用前,将产品从储存条件下取出恢复至室温。其中 MarveBlue dsDNA BR 提供的是 DMSO 溶液,在 4℃ 存放时是固体形态,可 37℃ 水浴溶解。每个组分应充分震荡或涡旋混匀、离心,以免造成不必要的试剂损耗。
- 3.每个待测样品对应 200 μL 的 MarveBlue 工作液。为得到最佳结果,工作液应在一小时内使用完毕。如果将工作液重新储存并在 24 小时内使用,结果的准确性会有轻微损失。储存过程中,染料可能会出现沉淀现象,可以通过涡旋震荡使其重悬。与染料配合使用的其他试剂如表 1 所示,使用前请充分混匀。

表 1 20 mL MarveBlue dsDNA BR 工作液配制

(具体规格按实际需求略作调整)

组分	体积
A. WonderBlue® Broad Range Buffer	20 mL
B. WonderBlue® Broad Range Dye, 100 ×	200 μL
C. WonderBlue® Broad Range Enhancer, 100 ×	200 μL

- 4.对于每个样品,吸取 200 μL 的工作液至黑色的 96 孔板微孔中。为确保结果精确可靠,建议每个测试样品和 DNA 标样分别做平行的 3 个复孔,此过程也可以使用有精确量程的移液排枪进行。黑色的检测板可以减少各测试样品间的荧光干扰。
- 5.在 96 孔板微孔中,加入 $10\,\mu L$ 的 dsDNA 标样或 $1{\sim}20\,\mu L$ 未知样品,并用移液器轻轻混匀。
- 6.将微孔板室温避光孵育 10 min,为得到最佳结果,检测板应在一小时内读取完毕。如果将反应液重新储存并在 24 h 内读取数据,结果的精确性会有轻微损失。
- 7.使用激发波长和发射波长在 350 nm 和 460 nm 处的酶标仪测量荧光值。

https://www.med-life.cn Hot line:400-086-2158



8.制作一条标准曲线, 计算检测样品的 DNA 浓度 (见图 1)。

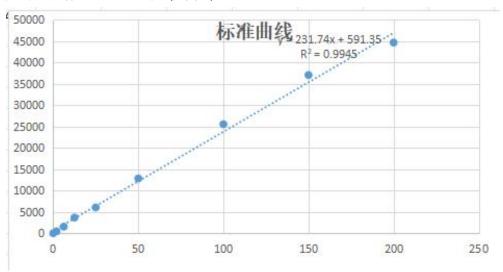


图 1 用本产品拟合的标准曲线

注:图 1 标准曲线仅供参考,您可以根据实际测得的数据自制标准曲线,从而求算样品的浓度。

附录

表 2 常见的 DNA 污染物对 MarveBlue ds DNA BR 定量试剂盒的影响

复合物	初始浓度	终浓度 (200μL)	信号降低
氯化钠 (NaCl)	500 mM	25 mM	-5%
氯化镁 (MgCl2)	100 mM	5 mM	35%
醋酸钠	600 mM	30 mM	50%
乙醇	20%	1%	4%
苯酚	2%	0.10%	3%
十二烷基硫酸钠 (SDS)	0.2%	0.01%	32%
SDS	0.02%	0.001%	5%
Triton X-100	0.2%	0.01%	8%
Triton X-100	0.02%	0.001%	-5%
Tween 20	0.1%	0.005%	20%
牛血清白蛋白 (BSA)	0.8 mg/mL	0.05 mg/mL	-1%
dNTPs	2 mM	100 μΜ	27%

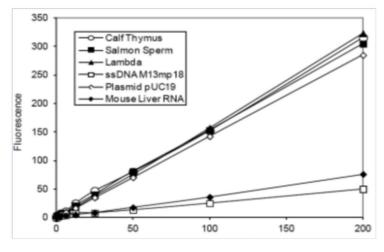


图 2 使用 MarveBlue dsDNA BR 定量试剂盒检测不同类型核酸得到的相对荧光强度

https://www.med-life.cn Hot line:400-086-2158