

产 品 说 明 书

WonderBlue® Broad Range 双链 DNA 定量试剂盒

产品货号: W2010S, W2010L

产品规格: 200T, 1000T

产品内容:

组分	规格	W2010S (200T)	W2010L (1000T)
A. WonderBlue® Broad Range Buffer		50 mL	250 mL
B. WonderBlue® Broad Range Dye, 100× in DMSO		0.5 mL	2 × 1.25 mL
C. WonderBlue® Broad Range Enhancer, 100× in water		0.5 mL	2 × 1.25 mL
D. dsDNA Standards in 10 mM Tris pH 7.5, 1 mM EDTA, 2 mM sodium azide. 0, 2, 6, 25, 12.5, 25, 50, 100, 150 and 200 ng/μL dsDNA from calf thymus		每组 0.1 mL (9 组)	每组 0.5 mL (9 组)

储存条件

4°C避光保存, 有效期见外包装。

产品参数

Ex/Em: 350/460 nm (结合 dsDNA)

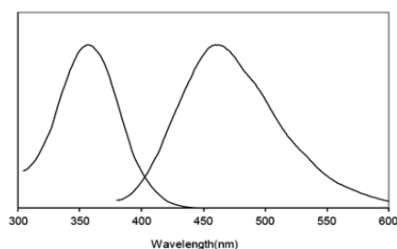


图 1. 在 dsDNA 过饱和的条件下, WonderBlue®的激发与发射光谱图。

产品介绍

WonderBlue® Broad Range双链DNA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。

使用方法



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。如果检测时不只一块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WonderBlue® Broad Range dye提供的是DMSO溶液，在4°C存放时是固体形态，可37°C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 μ L 的 WonderBlue®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 WonderBlue® Broad Range 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 μ L
C. WonderBlue® Broad Range Enhancer, 100×	200 μ L

4. 对于每个样品，吸取 200 μ L 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 μ L 的 dsDNA 标样或 1-20 μ 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。
8. 制作一条标准曲线，计算检测样品的DNA浓度（见图3）。注：图3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

实验参考因素

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. WonderBlue® Broad Range dsDNA Quantitation Kit 可以测量范围在 2-2000 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 (见图 4)。如需检测更低含量的样品，您可以将 DNA 标样用 1×TE 缓冲液作进一步的稀释，浓度可以稀释到 0.2 ng/ μ L，然后按照常规程序每孔 10 μ 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. 表 2 详细列出了几种常见的 DNA 污染物，如盐、溶剂、洗涤剂 and 蛋白质等。



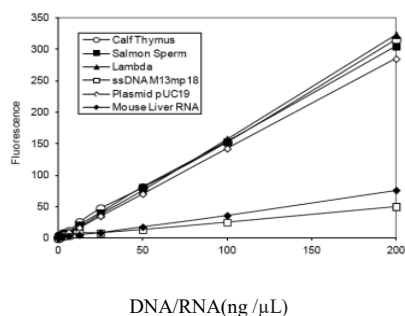


图 2. 使用 WonderBlue® dsDNA 定量试剂盒检测不同类型核酸得到的相对荧光强度。

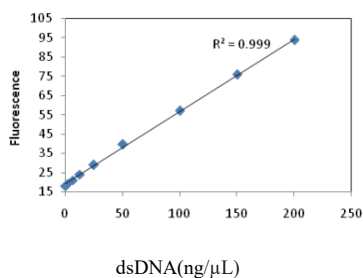


图 3. 使用 WonderBlue® dsDNA 定量试剂盒制作的 calf thymus DNA 标准曲线 (Ex/Em=350/460 nm)。

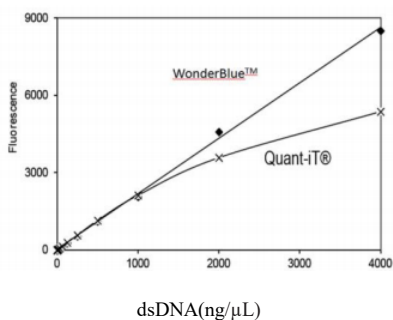


图 4. 分别使用 WonderBlue® dsDNA 定量试剂盒和 Quant-iT 定量试剂盒检测 calf thymus DNA 两倍稀释液，酶标仪检测得到的曲线图。上图显示 WonderBlue® dsDNA 定量试剂盒测得的 DNA 样本线性关系更好，且动态测量范围更广。

表 2. 常见的 DNA 污染物对 WonderBlue® Broad Range dsDNA Quantitation Kit 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 (MgCl ₂)	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 μ M	27%

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. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

