Lumiprobe
Life science solutions



Инструкция к набору QuDye® dsDNA HS Rapid для определения количества двухцепочечной ДНК

Lumiprobe Corporation. All rights reserved.

Contents

Русский: Инструкция к набору QuDye® dsDNA HS Rapid для определения количества двухцепочечной ДНК 3-6

RU

Инструкция к набору QuDye® dsDNA HS Rapid для определения количества двухцепочечной ДНК

Набор QuDye® dsDNA HS Rapid предназначен для быстрой и высокочувствительной количественной оценки двухцепочечной ДНК методом флуоресценции на флуориметре (например, QuReader 1, QuReader 8 и др.).

Входящий в состав набора рабочий раствор красителя (QuDye dsDNA HS Working solution, 1×) полностью готов к использованию и не требует дополнительных операций по его разбавлению.

Все поставляемые реагенты оптимизированы для работы на флуориметре. Диапазон измеряемых концентраций ДНК составляет 10 пг/мкл—100 нг/мкл для исходного образца.

Состав набора

Компонент набора	Количество			
	1A102 100 assays	1B102 100 assays	2A102 500 assays	2B102 500 assays
SB650, QuDye® dsDNA HS Working solution, 1×, 50 mL	1	1	3	3
B9650, Стандарт / Quantitative standard, 0 нг/мкл в ТЕ буфере, 1 mL	1	1	—	—
B7650, Стандарт дцДНК / dsDNA quantitative standard, 10 ng/uL в ТЕ буфере, 1 mL	1	1	—	—
33115, Пробирка тонкостенная (0.5 mL прозрачный полипропилен), 100 pcs	—	1	—	5
G9650, Стандарт / Quantitative standard, 0 нг/мкл в ТЕ буфере, 5 mL	—	—	1	1
G7650, Стандарт дцДНК / dsDNA quantitative standard, 10 ng/uL в ТЕ буфере, 5 mL	—	—	1	1

Хранить при температуре +4°C. Прогреть до комнатной температуры перед использованием. Транспортировка: до трех недель при комнатной температуре.

Срок хранения 12 месяцев.

Прежде чем начать

- Все измерения с использованием набора QuDye® dsDNA HS Rapid должны проводиться при комнатной температуре (22–28°C).
- Перед началом работы прогрейте все необходимые растворы до комнатной температуры.

- Избегайте нагрева образцов, в частности, не держите в руках пробирки с образцами непосредственно перед измерениями на флуориметре, так как результаты измерений зависят от температуры пробы.

Постановка реакции

1. Подготовьте две пластиковые пробирки для стандартов и по одной на каждый исследуемый образец. Промаркируйте только крышки.
2. В пробирки для стандартов внесите по 190 мкл готового рабочего раствора (QuDye dsDNA HS Working solution, 1×) и по 10 мкл стандартов: **Стандарт #1** (Quantitative standard, 0 нг/мкл и **Стандарт #2** (dsDNA Quantitative standard, 10 нг/мкл).
3. В каждую пробирку для исследуемых образцов внесите от 180 до 199 мкл готового рабочего раствора и от 20 до 1 мкл образца. Общий объем реакции — 200 мкл.
4. Перемешайте содержимое пробирок на вортексе (2–3 с), сбросьте капли коротким центрифугированием.
5. Подберите разведение образца так, чтобы диапазон количества ДНК в пробирке для измерения был в пределах 0,2–100 нг. Пример: для образца 10 пг/мкл — 20 мкл образца + 180 мкл рабочего раствора (итог: 0,2 нг ДНК); для образца 100 нг/мкл — 1 мкл образца + 199 мкл рабочего раствора (итог: 100 нг ДНК).

   Важно! Избегайте использование слишком малых объемов для внесения образца, чтобы минимизировать ошибки при дозировании.
6. Инкубируйте все пробирки (стандарты и образцы) при комнатной температуре (22–28°C) в течение 5 мин.

Измерение флуоресценции

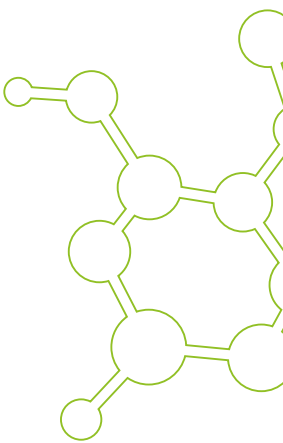
1. *Измерение интенсивности флуоресценции следует выполнять согласно инструкции к флуориметру. В зависимости от версии флуориметра пункты меню могут отличаться от приведенных ниже.*
2. Используйте режим **dsDNA High Sensitivity** на флуориметре.
3. При новой постановке или изменении условий желательно провести новую калибровку флуориметра на двух стандартах (Quantitative standard, 0 нг/мкл и dsDNA Quantitative standard, 10 нг/мкл).
4. Последовательно измерьте первый стандарт, второй стандарт и затем экспериментальные образцы.

Расчет концентрации ДНК

1. Находясь во вкладке *Sample*, поместите в гнездо флуориметра пробирку с экспериментальным образцом.
2. Закройте крышку, нажмите *Read*.
3. После завершения измерения прибор покажет на экране значение QF. Значение QF представляет собой концентрацию ДНК после разбавления исходного образца в пробирке для измерения.
4. Рассчитайте исходную концентрацию ДНК по формуле:

   Концентрация ДНК в исходном образце (нг/мл) = QF × 200/V, где
   - V — объем исходного образца в мкл, который был добавлен в пробирку для измерения,
   - QF — результат измерения на экране флуориметра (нг/мл).
5. Повторите процедуру для всех экспериментальных образцов.
6. Для расчета концентрации ДНК в исходном образце Вы также можете воспользоваться калькулятором на флуориметре (*Dilution Calculator*).

22.09.509-QM
Issued by INSPECT



www.lumiprobe.com