

RobustDye™ 1 X dsDNA HS Assay Kit

（货号: N106, N107）

产品简介:

RobustDye™ 1 x dsDNA HS Assay Kit 是一款简单、灵敏、准确的，用于 dsDNA 定量的检测试剂盒。试剂盒包含即用型检测试剂和预稀释的 dsDNA 标准品。该检测试剂盒对 dsDNA 具有高选择性，在检测 10 pg / μL ~ 100 ng/ μL 浓度范围的 dsDNA 时具有较高的可靠性，在稳定性、线性动态范围和灵敏度等方面优于其他传统的 DNA 定量方法。试剂盒操作简便，使用时只需将样品 (1 μL ~ 20 μL 之间的任意体积均可) 加入检测试剂中混匀，即可使用荧光酶标仪或荧光计 (如 Quantus™ 或 Qubit® 荧光计) 读取荧光值。该试剂盒对常见污染物如蛋白质、盐、溶剂和洗涤剂具有良好的耐受性。

产品优点:

- ❖ 稳定，极强的荧光信号。
- ❖ 简便、灵敏盒精确的 dsDNA 定量方法。
- ❖ 低浓度 dsDNA 定量具有更好的效果。
- ❖ 更适用于高通量样本浓度定量，成本低。

表 1. 试剂盒组分:

组分	体积	浓度	储存条件	稳定性
RobustDye™ 1 x dsDNA HS Assay Kit (货号: N106, 200 assays)				
RobustDye™ 1 x dsDNA HS Working Solution (组分 A)	50 mL	1×in DMSO	2~8°C , 避光保存。	所有组分避免反复冻融，按照推荐条件保存，保质期至少 6 个月。
dsDNA Standard #1 (组分 B)	1 mL	0 ng/ μL in TE buffer		
dsDNA Standard #2 (组分 C)	1 mL	10 ng/ μL in TE buffer		
RobustDye™ 1 x dsDNA HS Assay Kit (货号: N107, 1,000 assays)				
RobustDye™ 1 x dsDNA HS Working Solution (组分 A)	250 mL	1×in DMSO	2~8°C , 避光保存。	所有组分避免反复冻融，按照推荐条件保存，保质期至少 6 个月。
dsDNA Standard #1 (组分 B)	5×1 mL	0 ng/ μL in TE buffer		
dsDNA Standard #2 (组分 C)	5×1 mL	10 ng/ μL in TE buffer		

备注: 结合 dsDNA 时，激发/发射波长: 500/530 nm; 检测灵敏度为: 0.2 ~ 100 ng。

注意事项

- ※ 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。
- ※ 基于实验者自身健康和安全考虑，建议穿实验服，并戴一次性手套操作。
- ※ 对于 dsDNA 标准品，每次使用前，请先摇匀，再离心数秒钟，使液体充分沉降至管底。
- ※ 为保证定量结果的精确性，请务必使用校准后的移液器进行移液操作。

实验流程

1. 使用荧光酶标仪进行 dsDNA 定量检测分析 (注意: ① 为简便起见，以下操作说明中以 10 μL 体积 dsDNA 样品为例,但是实际应用中须根据 dsDNA 样品的浓度选择合适的体积(一般情况下待测的 dsDNA 样品体积范围为 1~20 μL)，然后调整 RobustDye™ 1 dsDNA HS Working Solution (组分 A) 的体积，使整个检测体系总体积为 200 μL ；② 如待测 dsDNA 样品浓度高于 100 ng/ μL ，请务必进一步稀释样品后再进行检测，否则会影响结果的准确性。)

1.1 使用前，将 RobustDye™ 1 x dsDNA HS Assay Kit 所有组分恢复至室温。

1.2 向荧光酶标板中分别加入 RobustDye™ 1 x dsDNA HS Working Solution(组分 A)，每孔 190 μL 。(注意：推荐使用黑色的酶标板，如 Greiner 或 Corning 公司的黑色 96 孔荧光酶标板，可有效降低反应孔间的荧光交叉干扰。)

1.3 利用试剂盒中的 dsDNA Standard #2 (组分 C)，按照浓度梯度进行稀释，制备一系列不同浓度稀释的 dsDNA 标准品（亦可使用已知浓度的 dsDNA 样品作为标准品）。注意：由于需要绘制标准曲线，dsDNA 标准品进行浓度梯度稀释时，至少需设置 5 个浓度梯度，且待测 dsDNA 样品的浓度须介于稀释标准品的浓度范围区间，以保证检测结果的准确性。

1.4 再向荧光酶标板中加入梯度浓度稀释的 dsDNA 标准品（1.3 步骤中制备）或待测 dsDNA 样品，每孔 10 μL ，并分别设置 1~2 个复孔，再用移液器轻轻吹打，使工作液与 dsDNA 标准品或样品充分混匀。

1.5 将整块荧光酶标板置于室温环境中，避光孵育 2 分钟。

1.6 使用荧光酶标仪检测荧光信号值，选择合适的检测波段：激发波长(Ex)设置为 485nm，发射波长(Em)设置为 530nm。

1.7 检测所得不同梯度浓度稀释的 dsDNA 标准品的荧光信号值分别对应其浓度。绘制标准曲线：将所得的未知浓度 dsDNA 样品的荧光信号值代入标准曲线中，可计算出 dsDNA 样品的浓度。

2. 使用 Qubit® 荧光测量仪进行 dsDNA 定量检测分析(注意: ① 为简便起见，以下操作说明中以 10 μL 体积 dsDNA 样品为例,但是实际应用中须根据 dsDNA 样品的浓度选择合适的体积(一般情况下待测的 dsDNA 样品体积范围为 1~20 μL)，然后调 RobustDye™ 1x dsDNA HS Working Solution (组分 A) 的体积，使整个检测体系总体积为 200 μL ；② 如待测 dsDNA 样品浓度高于 100 ng/ μL ，请务必进一步稀释样品后再进行检测，否则会影响结果的准确性。)

2.1 使用前，将 RobustDye™ 1 x dsDNA HS Assay Kit 所有组分恢复至室温。

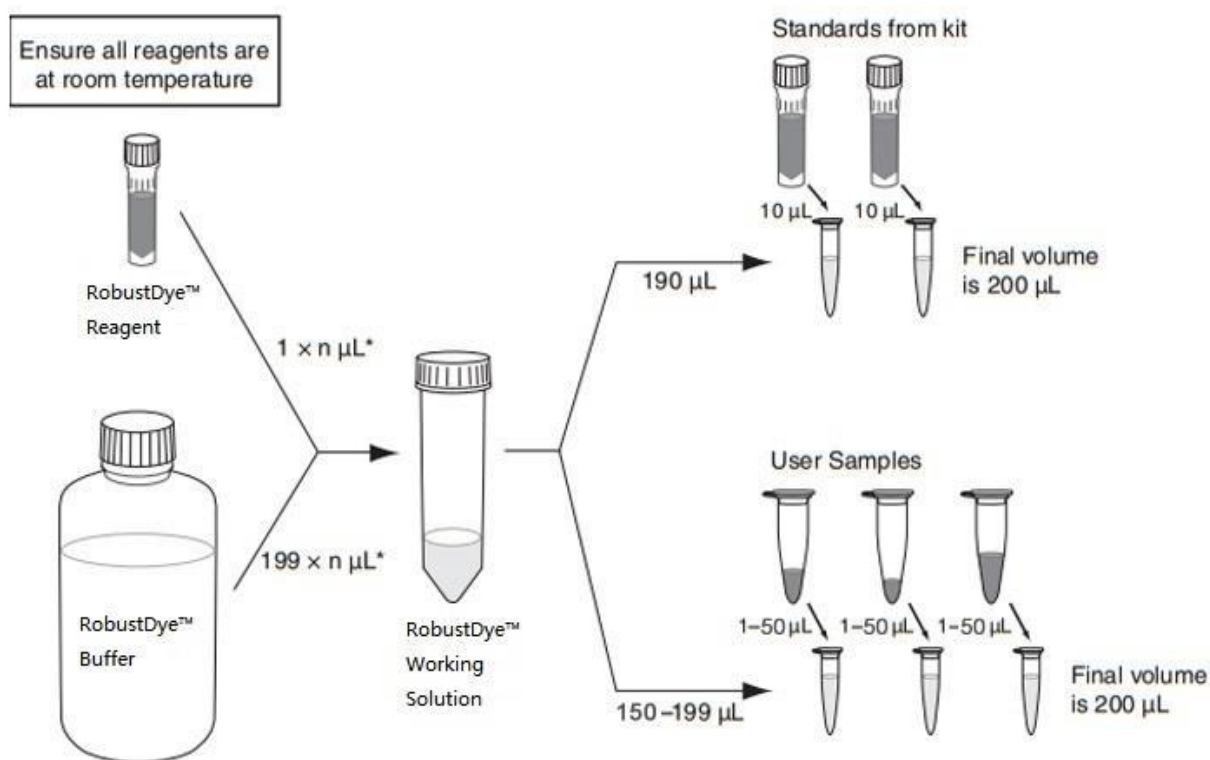
2.2 向 PCR 分析管中分别加入 RobustDye™ 1 x dsDNA HS Working Solution (组分 A)，每管 190 μL 。(注意：推荐使用透明，薄壁 PCR 管 (RobustDye™ Assay Tubes,货号：N120)。

2.3 向 PCR 分析管中加入 dsDNA Standard #1 (组分 B)、dsDNA Standard#2 (组分 C)、或待测 dsDNA 样品，每管 10 μL ，震荡涡旋 2~3 秒，使工作液与标准品或样品充分混匀。请注意正确标记 dsDNA 标准品和待测样品的分析管。(注意：标准品每组 1~2 个重复，以便测得准确的标准参考荧光信号值，利于绘制标准曲线)

2.4 将所有已加样 PCR 分析管置于室温环境，避光孵育 2 分钟。

2.5 按照 Qubit® 荧光仪的操作说明，选择 **dsDNA High Sensitivity** 检测程序测定荧光信号值。（注意：依次测定 **dsDNA Standard #1** (组分 B)、**dsDNA Standard #2** (组分 C) 组荧光信号值，再测定待测样品荧光信号值）

图 3 RobustDye™ Assay Kit 检测流程示意图



实验案例

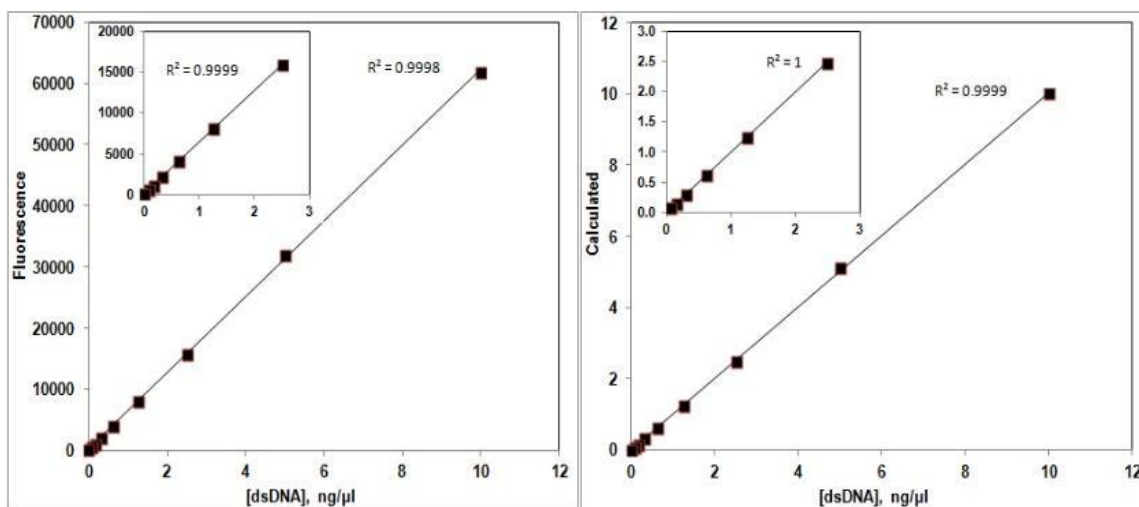


图 1 荧光酶标仪测定 dsDNA

图 2 Qubit® 荧光仪测定 dsDNA

相关产品

货号	产品名称	包装规格
N104/N105	RobustDye™ dsDNA HS Assay Kit	200/1000 assays
N108/N109	RobustDye™ dsDNA BR Assay Kit	200/1000 assays
N110/N111	RobustDye™ ssDNA Assay Kit	200/1000 assays
N112/N113	RobustDye™ RNA HS Assay Kit	200/1000 assays
N114/N115	RobustDye™ RNA BR Assay Kit	200/1000 assays
N116/N117	RobustDye™ miRNA Assay Kit	200/1000 assays
N120	RobustDye™ Assay Tubes	500 tubes