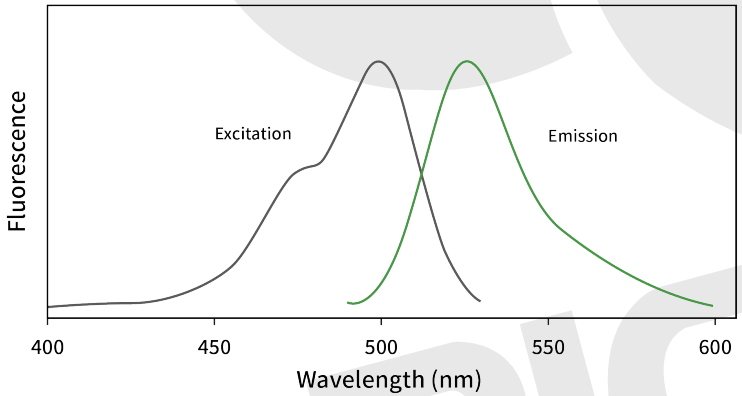
Easy-iSee™ DNA Quantification Assay kit (Fluorometric)

(BD-QUA-200, 200 assays, Store at -20℃)

개요

DNA 정량화는 Real-Time PCR, NGS 등과 같은 다양한 응용 분야에 필수적인 실험입니다. 일반적으로 DNA 정량은 NanoDrop과 같은 분석 기기를 통해 분석을 하지만 Sample 내 존재하는 단백질, RNA 등과 같은 다른 분자들에 의해 측정 오류가 발생할 수 있습니다. BIOMAX Easy-iSee™ DNA Quantification Assay kit (Fluorometric)는 dsDNA에 특이적으로 결합하는 인체에 무해한 형광 Probe(Ex/Em = 492/528 nm)를 이용한 제품으로 단백질, RNA 및 ssDNA의 방해를 받지 않고 dsDNA만을 빠르고 쉽게 검출하는 매우 특이적이고 높은 민감도를 가진 제품입니다. 광범위한 검출 범위 (1 ng-250 ng DNA)의 검출 한계를 가지고 있습니다.

Excitation and emission spectra



제품의 구성 및 보관 조건

Components	Size	Storage
10X Assay Buffer	20 ㎖	-20℃
DNA Probe	100 ㎕	
dsDNA Standard (5 ng/㎕)	1 ㎖	

** 개봉하지 않은 제품은 빛을 차단한 상태에서 -20 ℃ 보관 시 약 1 년간 안정적입니다.*

검사 필요 장비 및 소모품

- ▶ 96-well Microplate (Black, Flat bottom)
- ▶ Pipette & Sterile tips
- ▶ D.W.
- ▶ Microtube
- ▶ 15 or 50 ㎖ Conical tube
- ▶ Fluorometric microplate reader (Excitation/Emission = 485 nm/530 nm filter)

실험 전 준비 사항 및 보관 방법

- ▶ 제품의 모든 구성품은 상온에서 놔두어 완전히 녹인 후 사용합니다.
- ▶ Vial 뚜껑 내부에 시약이 묻어 있을 수 있으니 개봉 전 원심 분리합니다.
- ▶ **1X Assay Buffer :** 10X Assay Buffer 5 ㎖과 D.W. 45 ㎖을 혼합하여 준비합니다.
  사용 후 4℃ 또는 -20℃에 보관하여 사용합니다.
- ▶ **DNA Probe solution :** 1X Assay Buffer로 200배 희석하여 사용하며, 사용량만큼만 제조하여 사용합니다.
  사용 후 4℃ 또는 -20℃에 보관하여 사용합니다.
  (well 당 사용량 100 ㎕)
  ex) DNA Probe 5 ㎕ + 1X Assay Buffer 995 ㎕
- ▶ **dsDNA Standard (5 ng/㎕) :** 사용시 Ice에 박아 사용하며, 사용 후 -20℃에 보관하여 사용합니다.

Sample preparation

모든 Sample은 Fresh한 상태이어야 하며, -80 ℃에서 보관 하더라도 1~2 개월 이상 된 Sample을 측정할 시 결과값이 떨어질 수 있습니다. 미지의 시료 또는 처음 측정하는 시료의 경우 측정값이 Standard curve 내에 위치하도록 예비실험을 하신 후 사용을 권장합니다.

- 측정 Sample의 Several dilution을 준비하여 실험을 진행합니다. 이때 1X Assay Buffer로 희석합니다. (well 당 사용량 50 ㎕)
- 실험 후 보관 시 -80℃에서 보관합니다.

Copyright©2024 BIOMAX Co, Ltd. All right reserved
info@scgbiomax.com

Standard preparation (Broad range)

dsDNA Standard (5 ng/㎕)를 1/2씩 Serial dilution하여 6구간의 Standard solution을 아래 표와 같이 만들어 사용합니다.

STD No.	STD Stock	Vol. of STD Stock (㎕)	1X Assay Buffer (㎕)	Final STD Vol. in well (㎕/well)	Final STD Amount in well (nmol/well)
6	dsDNA Standard (5 ng/㎕)	500	-	50	250
5	STD No. 1	250	250	50	125
4	STD No. 2	250	250	50	62.5
3	STD No. 3	250	250	50	31.25
2	STD No. 4	250	250	50	15.625
Blank	-	-	250	50	0

실험 과정

* 미지의 Sample 또는 처음 측정하는 Sample 의 경우 측정값이 Standard curve 내에 위치하도록 예비실험 진행 후 사용을 권장합니다.
* Duplicate 또는 Triplicate를 권장합니다.

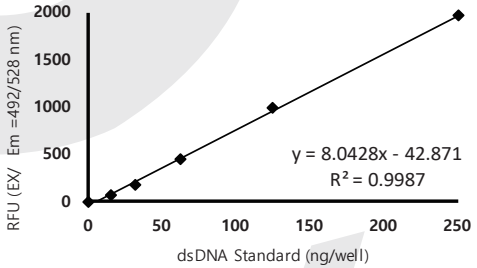
① 준비된 Standard solution을 각 Standard well에 50 ㎕씩 분주합니다.
② 준비된 Sample 50 ㎕를 Sample well에 분주합니다.
③ 희석된 DNA Probe solution을 Standard, Sample well에 100 ㎕씩 분주합니다.
④ 빛을 차단하여 상온에서 10 min 동안 Incubation 후 Fluorometric microplate reader로 Excitation/Emission = 492 nm/528 nm 에서 측정합니다.

결과 분석

- 각 Standard well과 Sample well의 Duplicate 또는 Triplicate 측정값의 평균값을 구합니다.
- 모든 측정값에서 Blank 값을 뺍니다.
- 아래 계산식으로 Sample 내 DNA 농도를 계산합니다.

$$\text{Sample DNA Concentration (ng/㎕)} = \frac{B}{50㎕} \times D$$

B : Sample의 형광값을 Standard curve에 대입하여 측정된 DNA의 양 (ng/well)
50 ㎕ : 첨가한 Sample volume
D : Sample 희석 배율



dsDNA standard Broad range curve (0-250 ng/well)

Copyright©2024 BIOMAX Co, Ltd. All right reserved
info@scgbiomax.com

주의사항

Effect of contaminants

Contaminant	Initial concentration in DNA sample	Final concentration in the assay (150 ㎕)	Result
Sodium chloride	500 mM	50 mM	Pass
Magnesium chloride	50 mM	5 mM	Pass*
Sodium acetate	300 mM	30 mM	Pass
Ammonium acetate	500 mM	50 mM	Pass
Ethanol	10%	1%	Pass
Phenol	1%	0.10%	Pass*
Chloroform	10%	1%	Pass
SDS	0.10%	0.01%	Pass
Triton™ X-100	0.10%	0.01%	Pass*
dNTPs	1 mM	100 uM	Pass
BSA	100 mg/ml	10 mg/ml	Pass*
IgG	5 mg/ml	0.5 mg/ml	Pass
Polyethylene Glycol	20%	2%	Pass
Agarose	1%	0.10%	Pass

Pass* : dsDNA Standard 내에 수용 가능한 결과지만 최종 형광 값에 영향을 주므로 보다 정밀한 결과를 얻으려면 dsDNA Standard를 동일한 농도의 Contaminant로 희석하여 실험하는 것을 권장 드립니다.

BIOMAX

*** 안전한 사용을 위해 유해물질 정보는 MSDS를 참조하십시오.**

Copyright©2024 BIOMAX Co, Ltd. All right reserved
info@scgbiomax.com