

Easy-iSee™ DNA Quantification Assay kit

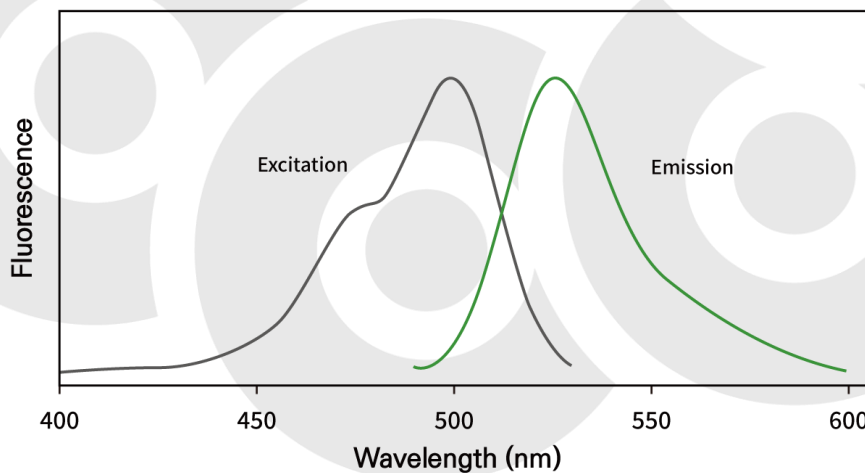
(Fluorometric)

BD-QUA-200, 200 assays

제품 원리

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. BIOMAX의 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 (1-250ng DNA)의 검출 한계를 가지고 있습니다.

Excitation and emission spectra



제품의 구성 및 보관 조건

Components	Size	Storage
10X Assay Buffer	20 mL	-20 °C
DNA Probe	100 µL	
dsDNA Standard (5 ng/µL)	1 mL	

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

검사 필요 장비 및 소모품

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

실험 전 준비 사항 및 보관 방법

- 제품의 모든 구성품은 상온에 두어 완전히 녹인 후 사용합니다.
- Vial 뚜껑 내부에 시약이 묻어 있을 수 있으니 개봉 전 원심 분리합니다.

1X Assay Buffer

- 10X Assay Buffer 5 mL과 D.W. 45 mL을 혼합하여 준비합니다.
- 사용 후 4 °C 또는 -20 °C에 보관하여 사용합니다.

DNA Probe solution

- 1X Assay Buffer로 200배 희석하여 사용하며, 사용량만큼만 제조하여 사용합니다.
- 희석된 Probe 용액은 빛을 차단하여 보관 및 취급합니다.
- 사용 후 4 °C 또는 -20 °C에 보관하여 사용합니다. (well 당 사용량 100 μ L)
ex) DNA Probe 5 μ L + 1X Assay Buffer 995 μ L

dsDNA Standard (5ng/ μ L)

- 사용 시 Ice 위에서 사용하며 반응(Incubation) 10분 동안 모든 용액이 완전히 상온(Room Temperature)에 도달하도록 합니다. 사용 후 -20 °C에 보관하여 사용합니다.

Sample preparation

모든 sample은 신선한(fresh)한 상태이어야 하며, -80 °C에서 보관하더라도 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 희석액(dilution)을 준비하여 실험을 진행합니다. 이때 1X Assay Buffer로 희석합니다. (well 당 사용량 50 μ L)
- 실험 후 보관 시 -80 °C에서 보관합니다.

Standard preparation (Broad range)

dsDNA Standard (5 ng/ μ L)를 1/2씩 serial dilution하여 standard solution을 아래 표와 같이 만들어 사용합니다.

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

실험 과정

- * 미지의 sample 또는 처음 측정하는 sample의 경우 측정값이 standard curve 내에 위치하도록 예비 실험 진행 후 사용을 권장합니다.
- * Duplicate 또는 triplicate를 권장합니다.

- ① 준비된 standard solution을 각 standard well에 50 μ L씩 분주합니다.
- ② 준비된 sample 50 μ L를 sample well에 분주합니다.
- ③ 희석된 DNA probe solution을 standard, sample well에 100 μ L씩 분주합니다.
- ④ 빛을 차단하여 상온에서 10분 동안 incubation 후 fluorometric microplate reader로 Ex/Em = 492 nm/528 nm 에서 측정합니다.

결과 분석

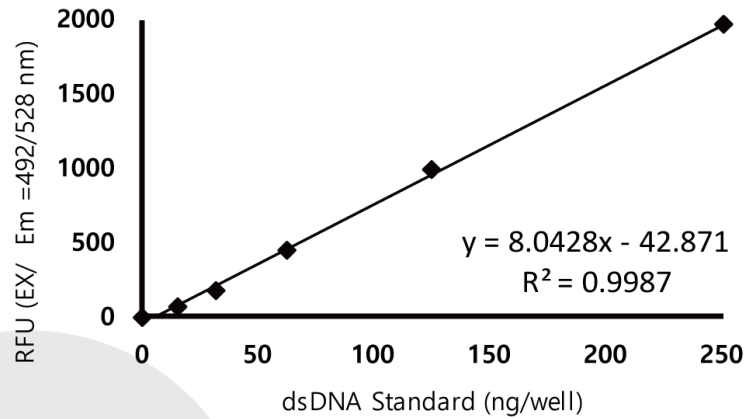
- ① 각 standard well과 sample well의 duplicate 또는 triplicate 측정값의 평균값을 구합니다.
- ② 모든 측정값에서 blank 값을 뺍니다.
- ③ 계산식을 이용하여 sample 내 DNA 농도를 계산합니다.

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

B : Sample의 형광값을 standard curve에 대입하여 측정된 DNA의 양 (ng/well)

50 μL : 첨가한 sample volume

D : Sample 희석 배율



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

주의 사항

Effect of contaminants

Contaminant	Initial concentration in DNA sample	Final concentration in the assay (150 µL)	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 %	0.1 %	Pass*
Chloroform	10 %	1 %	Pass
SDS	0.1 %	0.01 %	Pass
Triton™ X-100	0.1 %	0.01 %	Pass*
dNTPs	1 mM	100 µM	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 %	0.1 %	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.

* 안전한 사용을 위해 유해물질 정보는 MSDS를 참조하십시오.

Homepage : www.biomax.com

Shopping mall : www.biomaxmall.com

E-mail : info@scgbiomax.com

Tel : 02-3296-3158 / Fax : 02-973-2858

(주) 바이오맥스 : 경기 구리시 갈매순환로166번길 46, 금강펜테리움 IX타워 CORE-C, 7층

Note