

Qubit 双链 DNA 广谱检测试剂盒 (荧光法)

QubitdsDNA BR (Broad Range) Assay Kits



产品信息:

组分	BQ32850 100 次	BQ32853 500 次	Concentration
Qubit dsDNA BR Reagent (组分 A)	250µL	1.25 mL	200× in DMSO
dsDNA BR Buffer (组分 B)	50mL	250mL	TE Buffer
dsDNA BR Standard #1 (组分 C)	1mL	5mL	0 ng/µL in TE Buffer
dsDNA BR Standard #2(组分 D)	1mL	5mL	10ng/µL in TE Buffer

*备注: 不同批次的试剂不可混合使用。

保存条件: 4°C避光保存, 有效期 12 个月

产品介绍:

传统的 DNA 浓度检测通常采用基于 260 nm 吸光度 (A260) 的方法。该方法会检测该波长下所有的吸光物质, 包括 DNA、RNA、降解的核酸以及游离核苷酸等, 因此极易受到 RNA、单链核酸、蛋白质及样品中其他杂质干扰, 无法有效区分 DNA 与 RNA, 导致定量结果不准确。此外, 检测灵敏度较低, 5 µg/mL 的双链 DNA (dsDNA) 溶液在 A260 处的吸光度仅为 0.1。

相比之下, Qubit 荧光定量法通过 PicoGreen 染料特异性结合双链 DNA 并检测其荧光信号, 并由 Qubit 检测仪检测其发出的荧光信号, 有效排除了其他物质的干扰, 从而实现对样品中双链 DNA 进行精准定量。尽管其测得的 DNA 浓度通常低于 A260 读数, 但结果更为准确可靠。该方法的检测灵敏度极高, 可低至 0.5 pg/µL, 因此在需要高精度 DNA 定量的实验中, 荧光法是更优的选择。

The Qubit dsDNA BR (Broad Range) Assay Kits 检测适用于初始样品浓度为 0.2 ng/µL 至 2,000 ng/µL 的范围, 提供 4 - 2,000 ng 的检测范围。常见的污染物如盐、游离核苷酸、溶剂、去污剂或蛋白质在检测中均具有良好耐受性。

检验原理:

PicoGreen 是一种可对双链 DNA (dsDNA) 进行特异性结合的荧光染料。其激发波长为 480 nm, 发射波长为 520 nm。该染料仅在与双链 DNA 结合时才会发出荧光, 且不受蛋白质、RNA、单链核酸、盐离子或游离核苷酸的影响。其荧光强度与 dsDNA 浓度成正比, 且无序列依赖性, 因而非常适用于双链 DNA 的定量分析。

在 2010 年版《中国药典》的征求意见稿中, 针对生物制品中残留 DNA 的检测, 推荐了两种方法, 其中 PicoGreen 定量检测法因其操作简便而被多家生物制品厂采纳, 已成为该检测的标准方法之一。根据该版药典, PicoGreen 定量法的检测限约为 10 pg/µL, 并在 10 pg/µL 至 10 ng/µL 的浓度范围内具有良好线性关系 ($R^2 > 0.99$)。

产品特点：

- 1. 广谱适用性：**可测量来源于任何生物样品中的双链 DNA (dsDNA)。
- 2. 操作简便性：**能够直接对 PCR 扩增产物进行定量，无需从反应混合物中纯化 DNA。
- 3. 高灵敏度：**其检测灵敏度显著高于传统的紫外吸收法 (A260) 和 Hoechst 33258 荧光染料法。
- 4. 优异特异性：**可特异性检测 dsDNA，与常见干扰物如 Mg^{2+} 、氯化钠、醋酸钠、醋酸铵、乙醇、苯酚、氯仿、SDS、RNA、蛋白质、Triton X-100、dNTPs、BSA 等等均无交叉反应。
- 5. 强抗干扰能力：**在等摩尔浓度的单链 DNA (ssDNA) 和 RNA 存在下，对 dsDNA 的定量测定影响很小。

注意事项：

1. 检测温度：所有检测必须在室温操作(22–28°C)；
2. 孵育时间：为使检测达到最佳荧光强度，在将样品或标准品与工作溶液混合后，需进行 3 分钟的孵育。在此孵育期后，当样品和标准品避光时，荧光信号在室温下可保持稳定 3 小时。
3. 荧光校准：每次使用前，请按照批次使用标准品校准，以确保实时检测数据的一致性。

操作步骤：

1. 实验准备：

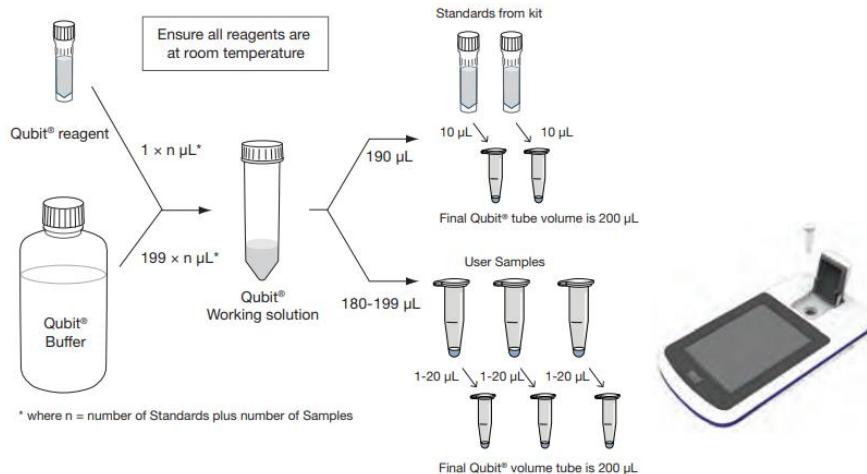
- 1.1 使用 0.5 mL PCR 薄壁管作为 Qubit 仪器分析测量管，为获得最佳效果，推荐使用 **Qubit assay tubes** (Cat.No.Q32856) 或 **Axygen PCR-05-C tubes** (Cat.No.10011-830) 耗材。
- 1.2 将试剂盒中的各组分移至室温 (22 – 28° C)，确保所有试剂达到室温时开始实验。
- 1.3 设置两个标准品测量管，分别为 dsDNA BR Standard #1 和 dsDNA BR Standard #2，每个待测样本需要一个测量管，序号标记在盖子上（注意：序号不要标记在管子的侧面，这会干扰仪器读数）。准备足够的 0.5 mL PCR 薄壁管用于 DNA 定量。
2. 配制 Qubit 工作溶液：将 Qubit 试剂 (Qubit dsDNA BR Reagent) 按 1:200 的比例用 Qubit 缓冲液 (dsDNA BR Buffer) 稀释。每个标准品和样品需要配制 200 μ L 工作溶液，因此需要先计算配制总的 Qubit 工作溶液的量。如果需要测量 N 个样品，应至少准备 $(N+2) \times 200 \mu$ L 体积的工作溶液。可以用一个 2ml、15ml 或者 50ml PP 管子配制。

工作液配制好后，3 小时内使用。

3. 根据下表准备测量管。

	Standard (标准品) 测量管	样品测量管
Qubit 工作溶液	190 μ L	180-199 μ L
dsDNA BR Standard #1 或者 dsDNA BR Standard#2	10 μ L	N/A
待测样品	N/A	1-20 μ L
检测总体积	200 μ L	200 μ L

操作流程图例



4.Qubit3.0 操作步骤

- 4.1 在 Qubit 3.0 主屏幕操作页面, 选择 DNA, 然后选择检测类型 dsDNA Broad Range。显示“Read standards”, 选择 Read Standards 进行检测。
- 4.2 将装有 Standard #1 管子插入样品槽中, 关闭上盖, 按键 Read standards. 读取完成后(~3 seconds), 移走 Standard #1。
- 4.3 将装有 Standard #2 管子插入样品槽中, 关闭上盖, 按键 Read standards. 读取完成后(~3 seconds), 移走 Standard #2。
- 4.4 按键 Run samples。
- 4.5 在读取页面, 选择相应的单位和体积;
 - 4.5.1 从旋转轮面板上选择+或-按钮来选择添加到试管中的样品体积 (从 1-20 μ L);
 - 4.5.2 从下拉菜单中选择测量样品浓度的浓度单位。
- 4.6 将装有待测样品的管子插入样品槽中, 关闭上盖, 按键 Read , 读取完成后(~3 seconds), 移走样品, 直至样品测完。

5. Qubit2.0 操作步骤

- 5.1 在 Qubit 2.0 主屏幕操作页面, 选择 DNA。显示“Read standards”, 选择 Read Standards 进行检测。
- 5.2 将装有 Standard #1 的管子插入样品槽中, 关闭上盖, 按键 Read standards. 读取完成后(~3 seconds), 移走 Standard #1。
- 5.3 将装有 Standard #2 管子插入样品槽中, 关闭上盖, 按键 Read standards. 读取完成后(~3 seconds), 移走 Standard #2。
- 5.4 按键 Run samples。
- 5.5 将装有待测样品的管子插入样品槽中, 关闭上盖, 按键 Read, 读取完成后(~3 seconds), 移走样品, 直至样品测完。

污染物对 dsDNA 定量检测试剂盒检测结果的影响

污染物 Contaminant	10 μL 样品中的 浓度 Concentration in 10 μL Sample	样品检测时浓度 Final Concentration in the assay	检测结果 ResuLt
盐类 Salts			
醋酸铵 Ammonium acetate	200 mM	10 mM	OK
醋酸钠 Sodium acetate	200 mM	10 mM	OK
氯化钠 Sodium chloride	200 mM	10 mM	OK
氯化镁 Magnesium chloride	40 mM	2 mM	OK
有机溶剂 Organic Solvents			
苯酚 Phenol	2%	0.1%	OK
乙醇 Ethanol	20%	1%	OK
氯仿 Chloroform	4%	0.2%	OK
去污剂 Detergents			
十二烷基磺酸钠 Sodium dodecyl sulfate	0.2%	0.01%	OK
曲拉通 Triton X-100	0.02%	0.001%	OK
其他化合物 Other Compounds			
牛血清白蛋白 Bovine serum albumin	400 μg/mL	20 μg/mL	OK
核糖核酸 RNA	1×*	1×*	OK
脱氧核糖核苷三磷酸 dNTPs	2 mM	100 μM	OK
聚乙二醇 Polyethylene glycol	20%	1%	OK
琼脂糖 Agarose	2%	0.1%	OK

*1×: 表示含有与 dsDNA 相同浓度的 RNA。

BM220424