

产品说明书

产品名称: X-Green II dsDNA Quantitation Kit

产品货号: BN12033

产品规格: 2000T

检测仪器: 与大多数荧光酶标仪、荧光计兼容

产品内容

产品	规格	浓度	储存
X-Green II (组分 A)	1 mL	溶于有机溶剂	2-6°C 干燥避光
20×Buffer (组分 B)	25 mL	20×Buffer	2-6°C
dsDNA 标准液 (组分 C)	1 mL	100 µg/mL	2-6°C

储存条件

4°C 避光保存, 推荐条件下可储存 6 个月。对于长期储存, 20× Buffer 和 dsDNA 标准液可以储存在 ≤-20°C。

产品参数

Ex/Em: 480/520 nm (结合 dsDNA)

产品介绍

X-Green II 是荧光检测 dsDNA 并进行定量的一种产品, 这种方法非常灵敏。常用于分子生物学技术: cDNA 文库的构建、亚克隆的 DNA 片段纯化及应用, 比如进行 DNA 定量、产物扩增和引物的进一步检测。常规的 DNA 含量的检测方法是在 260nm 处测其吸光值。这种方法的主要缺点是核苷酸、单链核酸和蛋白质对信号的影响很大, 并且还会受到核酸制备过程中污染物的干扰, 无法区分 DNA 和 RNA, 而且这种方法不灵敏 (5 µg/mL dsDNA 溶液 $A_{260}=0.1$)。X-Green II 定量检测方法简单、方便, 成为生物制品残留 DNA 检测的标准。

X-Green II 只有与 dsDNA 结合后才发出荧光, 并且所发荧光强度与 DNA 浓度成正比。X-Green II dsDNA Quantitation Kit 可以检测出 25pg/mL - 1000ng/ml 范围内的 dsDNA, 且线性关系较好 ($R^2>0.99$)。

实验步骤

试剂制备

X-Green II dsDNA 定量试剂是以 1 mL 的浓缩液形式保存在有机溶剂中。实验时, 配制操作溶液: 2× X-Green II 试剂, 将组分 A 用 1×Buffer (组分 B 稀释 20 倍) 按 1:200 的比例稀释。对于终体积为 2 mL 的检测体系, 如果要准备足够的操作溶液测定 20 个样品, 可在 20 mL 1×Buffer 中加入 100 µL 组分 A; 对于终体积为 200 µL 的检测体系, 如果要准备足够的操作溶液测定 20 个样品, 可在 2 mL 1× Buffer 中加入 10 µL 组分 B。由于试剂容易吸附到玻璃表面, 要在塑料容器中配制。组分 A 试剂见光易降解, 因此要注意避光保存。

溶液最好在配制好的数小时内使用, 以保证最佳的实

验结果。

实验方法

1. 将试剂盒中提供的组分 B 储备液稀释成 1× Buffer，如制备 50 mL 1× Buffer，需要将 2.5 mL 组分 B 加入到 47.5mL 无菌水中。
2. 稀释 DNA 标准品，制作标准曲线。用 1× Buffer 稀释组分 C 100 µg/ mL 至 2 µg/ mL。如取 40µL 组分 C，加入 1.96mL 无菌水即可。对于低浓度的标准曲线，可以把 2 µg/mL 的 DNA 标准品稀释 40 倍，制备 50ng/mL 的 DNA 储备液，然后再进一步稀释。具体稀释方法可参照表 1、表 2。

表 1. 宽线度标准曲线制备

Volume(µL) of Buffer	Volume(µL) of 2µg/ mL DNA stock	Final DNA Concentration in X-Green II Assay
0	1000	1 µg/mL
900	100	100 ng/mL
990	10	10 ng/mL
999	1	1 ng/mL
1000	0	blank

表2. 低浓度标准曲线制备

Volume(µL) of Buffer	Volume(µL) of 50 ng/ mL DNA stock	Final DNA Concentration in X-Green II Assay
0	1000	25 ng/mL
900	100	2.5 ng/mL
990	10	250 pg/mL
999	1	25 pg/mL
1000	0	blank

3. 对于每个未知样品，将 1-10 µL 样品与 99-90 µL 1× Buffer 混合，混匀，加入微孔板孔中检测。
4. 用 1× Buffer 按照 1: 200 稀释组分 A，制备 2× X-Green II 工作液。对于每个标准品和每个未知样品，都需要 100 µL 的体积。确定要测试的样品和未知样品的总数，并将该数值乘以 100 µL，即为所需稀释的 X-Green II 试剂的总体积。X-Green II 对光敏感，融化和稀释时要注意避光操作。
5. 添加 100 µL 稀释的 X-Green II 工作液到每个标准和样品孔。吹吸三次混匀。
6. 用锡箔纸覆盖微板，并在室温下孵育 5 min。
7. 读取数据，取平均值生成标准曲线，并确定未知样品中 DNA 的浓度。

注意事项:

1. 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。
2. X-Green II 工作液最好现配现用，以保证最佳结果。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。