

Easy-iSee™ DNA Quantification Assay kit

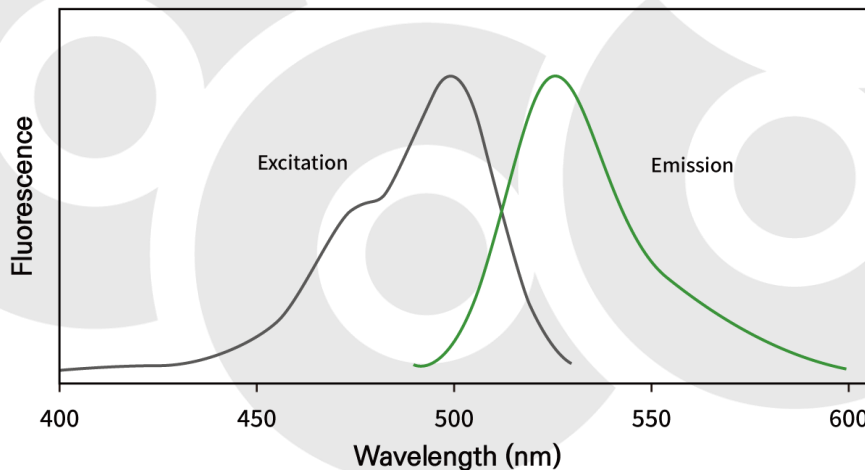
(Fluorometric)

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. 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 ml	-20°C
DNA Probe	100 ml	
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
- ▶ D.W.
- ▶ Microtube
- ▶ 15 or 50 ml 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 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.
- 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 (5 ng/ μ l)

- 사용 시 Ice에 박아 사용하며, 사용 후 -20°C에 보관하여 사용합니다.

Sample preparation

모든 Sample은 Fresh한 상태이어야 하며, -80 °C에서 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 위치 하도록 예비실험을 하신 후 사용을 권장합니다.

- 측정 Sample의 Several dilution을 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 6구간의 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 (nmol/well)
6	dsDNA Standard (5 ng/ μ l)	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 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 10 min 동안 Incubation 후 Fluorometric microplate reader로
Excitation/Emission = 492 nm/528 nm 에서 측정합니다.

결과 분석

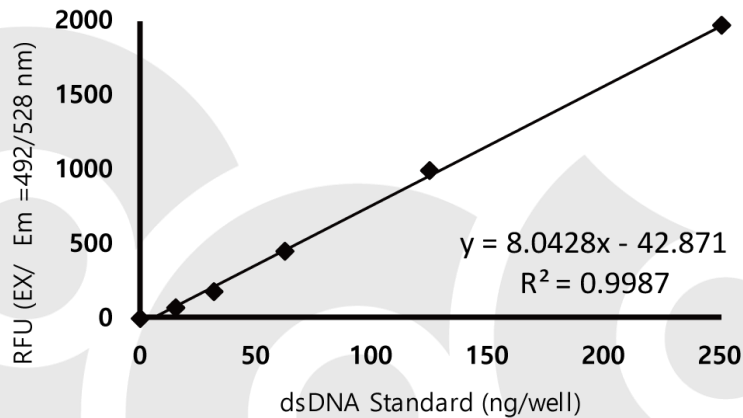
- 각 Standard well과 Sample well의 Duplicate 또는 Triplicate 측정값의 평균값을 구합니다.
- 모든 측정값에서 Blank 값을 뺍니다.
- 아래 계산식으로 Sample 내 DNA 농도를 계산합니다.

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

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%	0.10%	Pass*
Chloroform	10%	1%	Pass
SDS	0.10%	0.01%	Pass
Triton™ X-100	0.10%	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%	0.10%	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.

* 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