天净沙系列

CAT#:221181

低温运输， -20℃保存

天净沙

DNA 浓度测定试剂盒（Hoechst 33258 法）

DNA Concentration Assay Kit (Hoechst 33258 Method)

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

对 dsDNA 进行准确定量是很多重要的分子生物学实验的前提。不同的定量方法有不同的线性范围和检测灵敏度，对干扰的屏蔽能力也各不相同。其中， OD260 测定法操作最简单，但灵敏度只有 5 μg/mL，不能屏蔽单链 DNA、RNA 和核苷酸的干扰。为此本公司开发了基于 Hoechst 33258 荧光染料的 dsDNA 定量产品，它具有下列特点：

1. 即开即用，用户不需要单独摸索最佳条件。
2. 操作简单，只需要将 Hoechst 33258 工作液与待测样品混合即可。
3. 彻底屏蔽 RNA 的干扰，同样浓度 RNA 产生的荧光不超过 DNA 的 1%，尤其适用于直接用细胞裂解液测定 DNA 浓度（此时有大量 RNA 存在)。
4. 能部分屏蔽单链 DNA 的干扰。Hoechst 33258 荧光染料与单链 DNA 结合时发出的荧光并不会与单链 DNA 浓度成比例。
5. 需要激发波长为 365 nm，发射波长为 458 nm 的荧光仪。
6. 可选用比色皿检测模式，也可选用多孔板检测模式。
7. 灵敏度比 OD260 测定法高 500 倍，为 10 ng/mL。
8. 线性范围为 10 ng/mL-10 μg/mL（相当于 10 pg/μL-10 ng/μL)。
9. Hoechst 33258 染料对 dsDNA 具有高度选择性，主要识别 AT 区。
10. 提供 dsDNA 定量对照,用于制备标准曲线。dsDNA 定量对照 AT 含量为 59%。
11. 本产品足够 100 次 100 μL 体系的测定，每次用 10 μL 样品。
12. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用塑料袋包装

成分	编号	规格	包装
20×Hoechst 33258-DNA 结合液	221181a	10 mL	10 mL 本色瓶
dsDNA 定量对照，10 mg/mL	221181b	1 mL	1.5 mL 本色管
Hoechst 33258 染液	221181c	10 mL	10 mL 棕塑瓶
使用手册	221181sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效期半年。

自备试剂

超纯水，能检测激发波长为 365 nm，发射波长为 458 nm 的荧光仪。

使用方法

1. 将 DNA 标准品用 Hoechst 33258-DNA 结合液稀释成 1 mg/mL，此为工作液，放冰上待用。
2. 打开仪器预热 10-15 分钟。
3. 用超纯水将 20×Hoechst 33258-DNA 结合液稀释到 1×，用多少稀释多少。

	4. 用 1×Hoechst 33258-DNA 结合液将本试剂盒提供的 dsDNA 定量对照梯度稀释成 1 mg/mL、100 μg/mL、10 μg/mL、1 μg/mL、100 ng/mL、10 ng/mL 共六个浓度，各取 100 μL 到离心管中放常温待用。 5. 取 1×Hoechst 33258-DNA 结合液 100 μL 到离心管中作为空白对照。 6. 对 N 个待测样本，如果是待测 DNA 溶液，则取 10-100 μL 到离心管中，补 1×Hoechst 33258-DNA 结合液到总体积为 100 μL；如果是细胞裂解液，则稀释细胞裂解液使其 SDS 的浓度不超过 0.02%。如果超过此浓度，将在下步会降低荧光读数。 7. 在上述 6+1+N 个离心管中各加 100 μL Hoechst 33258 染液，充分震荡混合。 8. 40℃放置 20 分钟。 9. 测定 458 nm 光吸收（激发波长为 365 nm）。 10. 所有光吸收数值减去空白对照数值，然后根据此数值制作标准曲线，再用 N 各样本的数值从标准曲线中推出检测管中样本的 DNA 浓度，再根据稀释倍数计算出稀释前样本中 DNA 的浓度。
关联产品	PicoGreen 超敏 dsDNA 定量试剂盒