天净沙系列

CAT#:7-SC122-39-4

低温运输，2-8℃保存

天净沙

二苯胺法 DNA 含量测定试剂盒

DNA Assay Kit

使用手册 V0.56

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

本产品用于测定 DNA 含量。其原理是 DNA 的 2-脱氧核糖和特异反应物反应生成在 595 nm 处有特征光吸收的物质。以其为测定物，通过检测其吸光度在此波长下的改变即可计算出待测样本中 DNA 含量。本产品具有如下特点：

1. 即开即用，使用便捷，用户不需要优化条件，只需准备待测样本。
2. 提供 DNA 阳性对照，便于在遇到问题时分析原因。
3. 适用于检测从各种样本中提取的，或合成的 DNA。
4. 灵敏度高，最低检测限为 1 μM。
5. 可以定量，线性范围在 400 μM -10 mM 之间。
6. 足够 100 次 1 mL 体系的比色皿检测或 400 次 250 μL 体系的 96 孔板检测。
7. 本产品只可用于科研。

规格及成分

本产品采用小扁盒包装

成份	编号	规格	包装
DNA 测定液	7-SC122-39-4rx	100 mL	120 mL 本色瓶
DNA 测定反应物干粉	7-SC122-39-4sp	100 T	10 mL 本色瓶
4×DNA 测定显色液	7-SC122-39-4c	30 mL	30 mL 棕塑瓶
10 mM DNA 标曲液	7-SC122-39-4sd	5 mL	5 mL 本色瓶
使用手册	7-SC122-39-4sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，2-8℃保存，有效期一年。

自备试剂

待测样品，样本溶解液，超纯水，比色皿及与之匹配的分光光度计，96 孔板及与之匹配的分光光度计。

使用方法

一、首次使用本试剂盒时需配制下列溶液。

1. 反应物溶液：从装有 100 mL DNA 测定液的瓶中取出 10 mL 到新的离心管或试剂瓶中待在第 4 步使用，再将 DNA 测定反应物干粉全部加入到剩余的 90 mL DNA 测定液中，颠倒摇晃 20 次溶解，得 3×反应物溶液，放冰上待用。
2. 如果一次实验没有用完上述溶液，需要放-20℃或更低温度保存。

二、制备待测样本

3. 用自备试剂制备待测样品，记下初始样本用量（如 g 数或 mL 数）。

三、标曲制备（以 6 个浓度梯度的标曲液为例）

4. 标记 0-6 号共 7 个 1.5 mL 离心管,并在 0-5 号管中加入 0.7 mL 第 1 步留存的 DNA 测定液，第 6 号管不加 DNA 测定液。
5. 在 6 号管中加入 0.7 mL 试剂盒提供的 10 mM DNA 标曲液。

6. 在 5 号管中也加入 0.7 mL 试剂盒提供的 10 mM 标曲液，充分震荡 1 分钟，由于管中已经有 0.7 mL 测定液，故得 5 mM 标曲液。
7. 在 4 号管中加入 0.7 mL 5 号管标曲液，充分震荡 1 分钟，得 2.5 mM 标曲液。
8. 在 3 号管中加入 0.7 mL 4 号管标曲液，充分震荡 1 分钟，得 1.25 mM 标曲液。
9. 重复上面的操作直到得到 1 号管标曲液。0 号管不需要加入 1 号管标曲液，故它只含有在第 4 步加入的 0.7 mL DNA 测定液。最后，0-6 号共 7 个管中 DNA 浓度分别为 0、313 μM、625 μM、1.25 mM、2.5 mM、5 mM 和 10 mM。放冰上待用。
10. 将分光光度计开机，预热 30 分钟后用超纯水调零。在预热期间设置按下表标记 6 个 1.5 mL 反应管并按下表加入各成份：

成份	7 个 DNA 标曲管
3×反应物溶液（来于第 1 步）	各 250 μL
7 个 DNA 标曲样本（来于第 9 步）	各 500 μL，1 号样到 1 号管，以此类推
37℃保温 30 分钟后加入下列成份并快速混匀	
4×DNA 测定显色液	各 250 μL

11. 测定每个样本在 595 nm 的光吸收（以下全部简称为 A 值）。
12. 数据处理：将 1-6 号的 A 值分别减去 0 号的 A 值即得各标曲样本的真实 A 值。
13. 绘制标曲：以 1-6 号标曲液 DNA 浓度（单位为μM）为横轴，以每个标曲样本的 A 值为纵轴，绘制标准曲线并得到线性回归方程式 C = a*A + b。C 为标曲液 DNA 浓度（单位为μM），A 为 A 值。
14. 此公式可在后续计算中使用，不需要每次再做标曲，但必须在后续实验中设置 1 个质控点样本随待测样本一起测试。质控点样本的 DNA 浓度必须在上述标的线性范围内，并且最好跟上述 7 个标曲液 DNA 浓度不同。测试后将质控点样本的 A 值代入到上步的方程式得其计算浓度，如果此浓度跟质控点的配制浓度差异在 10%以内，则可以用此公式计算其余待测样本。如果差异大于 10%，则需在测试待测样本时同步制备新的标曲。

四、样本测定

15. 设置反应：在 1.5 mL 离心管中按下表分别加入各成份：

成分	质控点样本管	N 个待测样本管
3×反应物溶液（来于第 1 步）	250 μL	各 250 μL
质控点样本	各 500 μL	不加
自备 N 个待测样本	不加	各 500 μL

	37℃保温 30 分钟后加入下列成份
	4×DNA 测定显色液 | 250 μL | 各 250 μL

16. 测定每个样本在 595 nm 的 A 值。

五、数据处理

17. 计算真实 A 值：将各样本的 A 值减去所对应的无酶对照样本的 A 值，即得各样本的真实 A 值。

18. 将真实 A 值导入到 C = a*A + b 公式中，即可计算出待测样本中 DNA 浓度（单位为 μM）。如果计算所得的 DNA 浓度在标曲的线性范围外，则对应的样本需要稀释，直到其测得的浓度在标曲的线性范围内。需要记下稀释倍数 N，在计算浓度时需要乘以稀释倍数。此浓度乘以样本体积即得样本中 DNA 的含量。再根据第 3 步记录的初始样本量即可计算出每 g 或每 mL 样本中 DNA 的含量。

六、96 孔板检测

19. 操作同上，只是在设置反应时，反应总体积为 0.25 mL，各成份的用量需要×25%。

关联产品	DNA 抽提试剂盒