

产 品 说 明 书

X-Green II 双链 DNA 定量试剂盒

产品货号: X2033S, X2033L

产品规格: 200T, 2000T

产品内容:

产品	X2033S (200T)	X2033L (2000T)	浓度
组分 A: X-Green II	0.1 mL	1 mL	
组分 B: 20×Buffer	2 × 1.25 mL	25 mL	20×
组分 C: dsDNA 标准液	0.1 mL	1 mL	100 µg/mL

储存条件

4℃避光保存, 有效期见外包装。对于长期储存, 20×Buffer 和 dsDNA 标准液可以储存在≤-20℃。

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260 nm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双链DNA定量试剂盒可以检测出25 pg/mL-1000 ng/mL范围内的dsDNA, 且线性关系较好($R^2>0.99$)。

使用方法

试剂制备

X-Green II是以1 mL的浓缩液形式保存在有机溶剂中。实验时, 配制2×X-Green II工作液: 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, 如需准备足够20个样品测定的工作液, 可在 19.9 mL 1×Buffer中加入100 µL组分A; 对于终体积为200 µL的检测体系, 如需准备足够20个样品测定的工作液, 可在1.99 mL 1×Buffer中加入10 µL组分A。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. 用无菌水将组分 B 稀释成 1×Buffer。如制备 50 mL 1×Buffer，需要将 2.5 mL 组分 B 加入到 47.5 mL 无菌水中。
2. 稀释DNA标准品，制作标准曲线。用1×Buffer将组分C由100 µg/ mL稀释至2 µg/ mL。如取40 µL组分C，加入1.96 mL无菌水。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50 ng/mL的DNA储液，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的1×Buffer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DNA的浓度。

注意事项

1. 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
2. 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。
3. X-Green II工作液最好现配现用，以保证最佳结果。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

