



## QuDye dsDNA HS Assay Kit manual



## Contents

English: QuDye dsDNA HS Assay Kit manual .....	3-6
Deutsch: Handbuch für das QuDye dsDNA HS Kit .....	7-10
Русский: Инструкция к набору QuDye dsDNA HS для определения количества двухцепочечной ДНК .....	11-14

**Lumiprobe Corporation**  
(US and Worldwide)  
9:00AM - 9:00PM EST

Phone: +1 888 973 63 53

**Lumiprobe GmbH**  
(Germany and Europe)  
8:00AM - 5:00PM CE(S)T

Phone: +49 511 16596811

**Lumiprobe RUS Ltd**  
(Russia and CIS)  
8:00 - 19:00 GMT+3 (Moscow)

Phone: +7 800 775 3271



ISO 9001:2015

## QuDye dsDNA HS Assay Kit manual

The kit is used for quantification of dsDNA with Qubit™ Fluorometer.

QuDye dsDNA HS reagent selectively binds to double-stranded DNA, so nucleotides, single-stranded DNA, RNA, proteins, and other impurities do not impede the measurements. All reagents are optimized to perform the measurements with Qubit™ fluorometer, the measurement range of initial sample DNA concentrations is from 10 pg/μL to 100 ng/μL.

### Kit components

Kit component	Count			
	12102 100 assays	13102 100 assays (incl. tubes)	52102 500 assays	53102 500 assays (incl. tubes)
33010, QuDye dsDNA HS Reagent, 200x, 250 μL	1	1	—	—
B9650, Standard #1 / Quantitative standard, 0 ng/μL in TE buffer, 1 mL	1	1	—	—
B7650, Standard #2 / dsDNA quantitative standard, 10 ng/μL in TE buffer, 1 mL	1	1	—	—
G2150, TE buffer, 20x, 5 mL	1	1	—	—
Polypropylene tube (0.5 mL thin-walled transparent)	—	100	—	500
63010, QuDye dsDNA HS Reagent, 200x, 1.25 mL	—	—	1	1
G9650, Standard #1 / Quantitative standard, 0 ng/μL in TE buffer, 5 mL	—	—	1	1
G7650, Standard #2 / dsDNA quantitative standard, 10 ng/μL in TE buffer, 5 mL	—	—	1	1
N2150, TE buffer, 20x, 25 mL	—	—	1	1

Store at +4 °C. Warm to RT before use.

Shelf life 12 months.

*! All measurements with QuDye dsDNA HS Assay Kit should be performed at room temperature (22–28 °C). Before starting, equilibrate all kit's solutions to room temperature. Avoid warming the samples, as the sample temperature influences the measurement results; particularly do not hold the assay tubes in your hands just before fluorescence measurement with a Qubit™ fluorometer.*

## Protocol

1. Prepare 1x TE buffer taking into account that 200 µL of 1x TE buffer will be required for each sample and for each of the two standards. In order to do that, dilute 20x *TE concentrate* 20-fold with deionized water.
2. Prepare *QuDye dsDNA HS dye working solution* taking into account that 200 µL of dye working solution will be required for each sample and for each of the two standards. In order to do that, dilute *QuDye dsDNA HS reagent concentrate* 200-fold with *1x TE buffer*.

*For example, to measure 3 samples and 2 standards, prepare 200 µL x 5 = 1000 µL of 1x TE buffer and 1000 µL of dye working solution (mix 5 µL of QuDye dsDNA HS reagent concentrate and 995 µL of 1x TE buffer).*

*! It is recommended to use dye working solution within several hours after preparation. In case of postponed measurements protect prepared dye working solution from light.*

*! Use only plastic containers to prepare dye working solution, as QuDye dsDNA HS reagent can adsorb to glass surfaces, which results in decreasing of the dye concentration in samples and biases in the measurement results.*

3. Set up two 0.5 ml tubes (thin-walled and optical-transparent) for the standards and one tube for each sample. Label the tube lids. Do not label the side of the tube as this can interfere with the sample read.
4. To each of two tubes for standards add 190 µL of *QuDye dsDNA HS dye working solution* and either 10 µL of *Quantitative standard, 0 ng/µL (Standard #1)* or *dsDNA quantitative standard, 10 ng/µL (Standard #2)*. Vortex for

2–3 seconds and centrifuge briefly.

5. To each tube for samples add 180–199  $\mu\text{L}$  of *QuDye dsDNA HS dye working solution* and 20–1  $\mu\text{L}$  of DNA sample, respectively (the total volume should be 200  $\mu\text{L}$ ). Vortex for 2–3 seconds and centrifuge briefly.

*The dilution of sample is optional and depends on its initial concentration. The initial sample concentration should be within the range of 10  $\text{pg}/\mu\text{L}$ –100  $\text{ng}/\mu\text{L}$  for measurement with a Qubit™ fluorometer. At the same time, avoid pipetting small volumes to dilute the initial sample in order to maintain accuracy and precision of your measurements.*

6. Incubate all tubes (containing standards and DNA samples) for 3–5 minutes at room temperature.
7. Perform the fluorescence measurements.

## Fluorescence measurement with a Qubit™ fluorometer

*The next steps should be carried out according to the instruction of the Qubit™ fluorometer. Depending on the version of the fluorometer the menu items may differ from the specified below.*

1. On the Home screen of the Qubit™ fluorometer, choose «dsDNA HS (DNA High Sensitivity)» as the assay type. Press «Go»
2. With each preparation of the dye working solution, calibrate the fluorometer. Select «Run new calibration» and press «Go».
3. Insert the tube containing *Standard #1* into the sample chamber, close the lid, then press «Go». When the reading is complete (~3 seconds), remove *Standard #1*. Insert the tube containing *Standard #2* into the sample chamber, close the lid, then press «Go». When the reading is complete, remove *Standard #2*.
4. Insert the tube containing user sample into the sample chamber, close the lid, then press «Go». On the screen you will see the QF value.

Calculate the concentration of the sample by the formula: Concentration of the sample = QF value x 200/sample volume.

---

Qubit™ is a trademark of Thermo Fisher Scientific

# Handbuch für das QuDye dsDNA HS Kit

Dieses Kit dient der Konzentrationsbestimmung doppelsträngiger DNA mit dem Qubit™ Fluorometer. QuDye dsDNA HS Reagenz bindet selektiv an doppelsträngige DNA, sodass Nukleotide, einzelsträngige DNA, RNA, Proteine und andere Verunreinigungen keinen Einfluss auf die Messergebnisse haben. Alle Reagenzien sind für die Messungen mit Qubit™ Fluorometer optimiert, der Messbereich für die Ausgangskonzentrationen der DNA-Proben reicht von 10 pg/μl bis 100 ng/μl.

## Bestandteile

Komponente	Anzahl			
	12102 100 assays	13102 100 assays (incl. tubes)	52102 500 assays	53102 500 assays (incl. tubes)
33010, QuDye dsDNA HS Reagenz / QuDye dsDNA HS Reagent, 200x, 250 μL	1	1	—	—
B9650, Standard #1 / Quantitative standard, 0 ng/ul in TE-Puffer, 1 mL	1	1	—	—
B7650, Standard #2 / dsDNA quantitative standard, 10 ng/ul in TE-Puffer, 1 mL	1	1	—	—
G2150, TE-Puffer, 20x, 5 mL	1	1	—	—
Polypropylen-Gefäß (dünnwandiges transparentes 0,5 mL)	—	100	—	500
63010, QuDye dsDNA HS Reagenz / QuDye dsDNA HS Reagent, 200x, 1.25 mL	—	—	1	1
G9650, Standard #1 / Quantitative standard, 0 ng/ul in TE-Puffer, 5 mL	—	—	1	1
G7650, Standard #2 / dsDNA quantitative standard, 10 ng/ul in TE-Puffer, 5 mL	—	—	1	1
N2150, TE-Puffer, 20x, 25 mL	—	—	1	1



Bei +4 °C lagern. Reagenzien vor Gebrauch auf +20 °C temperieren.

Haltbarkeit: 12 Monate.

*! Alle Messungen mit QuDye dsDNA HS Kit werden bei Raumtemperatur (22–28 °C) ausgeführt. Bringen Sie vor Arbeitsbeginn alle Komponente des Kits auf Raumtemperatur. Vermeiden Sie die Erwärmung der Proben, denn die Temperatur der Proben beeinflusst Messergebnisse, insbesondere halten Sie die Röhrchen nicht in den Händen unmittelbar vor den Fluoreszenzmessungen mit Qubit™ Fluorometer.*

## Verfahren

1. Setzen Sie 1x TE-Puffer an, wobei für jede Probe und jeden Standard 200 µL 1x TE-Puffer benötigt werden. Den 1x TE-Puffer erhalten Sie, indem Sie 20x TE Konzentrat mit deionisiertem Wasser 20-fach verdünnen.
2. Setzen Sie QuDye dsDNA HS Farbstoffarbeitslösung an, wobei für jede Probe und jeden Standard 200 µL Farbstoffarbeitslösung benötigt werden. Die Farbstoffarbeitslösung erhalten Sie, indem Sie 200x QuDye dsDNA HS Farbstoffkonzentrat mit 1x TE-Pufferlösung 200-fach verdünnen.

*Zur Messung von 3 Proben und 2 Standards stellen Sie beispielsweise 200 µL x 5 = 1000 µL 1x TE-Puffer und 1000 µL Farbstoffarbeitslösung her (legen Sie 5 µL QuDye dsDNA HS Farbstoffkonzentrat und 995 µL 1x TE-Pufferlösung vor).*

*! Die angesetzte Farbstoffarbeitslösung ist innerhalb von wenigen Stunden aufzubrauchen. Erfolgt die Messung nicht sofort, lagern Sie die angesetzte Farbstoffarbeitslösung lichtgeschützt.*

*! Verwenden Sie zur Herstellung der Farbstoffarbeitslösung ausschließlich Kunststoffgefäße. Ein Glasgefäß kann den Farbstoff adsorbieren, was zur Verringerung der Farbstoffkonzentration in den Proben und Beeinflussung der Messergebnisse führen kann.*

3. Bereiten Sie 2 dünnwandige, optisch durchlässige 0,5-ml-Röhrchen für die Standards und ein Röhrchen je Probe vor. Beschriften Sie die Röhrchendeckel (nicht jedoch die Röhrchenwand, da dies das korrekte Ablesen der Probe stören

kann).

4. Pipettieren Sie in jedes Standardröhrchen 190  $\mu\text{l}$  *QuDye dsDNA HS Farbstoffarbeitslösung* und 10  $\mu\text{l}$  *Quantitative standard, 0 ng/ $\mu\text{l}$  (Standard #1)* bzw. *dsDNA quantitative standard, 10 ng/ $\mu\text{l}$  (Standard #2)*. Vortexen Sie für 2–3 Sekunden und zentrifugieren Sie kurz an.
5. Pipettieren Sie in jedes Probenröhrchen 180–199  $\mu\text{l}$  *QuDye dsDNA HS Farbstoffarbeitslösung* und 20–1  $\mu\text{l}$  DNA-Probe (Das Endvolumen muss 200  $\mu\text{L}$  betragen). Vortexen Sie für 2–3 Sekunden und zentrifugieren Sie kurz an.  
*Die Verdünnung der DNA-Probe ist optional und hängt von der Ausgangskonzentration ab. Die Ausgangskonzentration für Messungen mit Qubit™ Fluorometer muss im Bereich von 10 pg/ $\mu\text{l}$  bis 100 ng/ $\mu\text{l}$  liegen. Es wird gleichzeitig empfohlen, kleine Pipettiervolumina zur Verdünnung der Ausgangsprobe zu vermeiden, um die Genauigkeit und Präzision der Messungen zu gewährleisten.*
6. Inkubieren Sie alle Röhrchen (mit Standards und DNA-Proben) für 3–5 Minuten bei Raumtemperatur.
7. Führen Sie Fluoreszenzmessungen durch.

## Fluoreszenzmessung mit Qubit™ Fluorometer

Folgende Schritte sollen gemäß der Anleitung für das Qubit™ Fluorometer durchgeführt werden. Je nach Ausführung des Fluorometers können sich Menüpunkte von den unten genannten unterscheiden.

1. Nach dem Einschalten des Geräts wählen Sie auf dem Display des Qubit™ Fluorometers den Menüpunkt «dsDNA HS (DNA High Sensitivity)». Drücken Sie «Go».
2. Jedes Mal nach Herstellung einer frischen Farbstoffarbeitslösung muss das Fluorometer neu kalibriert werden. Wählen Sie «Run new calibration» und drücken Sie «Go».
3. Setzen Sie das Röhrchen mit dem *Standard #1* in den Probenraum ein, schließen Sie den Deckel und drücken Sie «Go». Nach Ablesen der Messwerte (etwa 3 Sekunden) entfernen Sie das Röhrchen mit dem *Standard #1*. Setzen Sie das Röhrchen mit dem *Standard #2* in den Probenraum ein, schließen Sie den Deckel und drücken Sie «Go». Nach Ablesen der Messwerte entfernen Sie das Röhrchen mit dem *Standard #2*.
4. Nach Abschluss der Kalibrierung setzen Sie das Röhrchen mit der DNA-Probe in den Probenraum ein, schließen Sie den Deckel und drücken Sie «Go». Auf dem Display wird der QF Wert angezeigt.

Sie können die DNA-Konzentration anhand der folgenden Formel berechnen:

DNA-Probenkonzentration = QF Wert x 200/Probenvolumen oder geben Sie das Probenvolumen ins Fluorometer ein.

---

Qubit™ ist eine Marke von Thermo Fisher Scientific

# Инструкция к набору QuDye dsDNA HS для определения количества двухцепочечной ДНК

Набор предназначен для определения концентрации двухцепочечной ДНК на флуориметре Qubit™. Благодаря селективному связыванию красителя QuDye dsDNA HS с двухцепочечной ДНК на результаты измерения не влияет присутствие в пробе нуклеотидов, одноцепочечной ДНК, РНК, белков и других примесей. Все поставляемые реагенты оптимизированы для работы на флуориметре Qubit™, диапазон измеряемых концентраций ДНК составляет 10 пг/мкл–100 нг/мкл для исходного образца.

## Состав набора

Компонент набора	Количество			
	12102 100 assays	13102 100 assays (incl. tubes)	52102 500 assays	53102 500 assays (incl. tubes)
33010, Краситель QuDye dsDNA HS / QuDye dsDNA HS Reagent, 200x, 250 µL	1	1	—	—
B9650, Стандарт #1 / Quantitative standard, 0 ng/µL в ТЕ буфере, 1 mL	1	1	—	—
B7650, Стандарт #2 / dsDNA quantitative standard, 10 ng/µL в ТЕ буфере, 1 mL	1	1	—	—
G2150, Буфер ТЕ, 20x, 5 mL	1	1	—	—
Пробирка тонкостенная (0.5 mL прозрачный полипропилен)	—	100	—	500
63010, Краситель QuDye dsDNA HS / QuDye dsDNA HS Reagent, 200x, 1.25 mL	—	—	1	1
G9650, Стандарт #1 / Quantitative standard, 0 ng/µL в ТЕ буфере, 5 mL	—	—	1	1
G7650, Стандарт #2 / dsDNA quantitative standard, 10 ng/µL в ТЕ буфере, 5 mL	—	—	1	1
N2150, Буфер ТЕ, 20x, 25 mL	—	—	1	1

Хранить при температуре +4 °С. Прогреть до +20 °С перед использованием.

Срок хранения 12 месяцев.

*! Все измерения с использованием набора QuDye dsDNA HS должны проводиться при комнатной температуре (22–28 °С). Перед началом работы прогрейте все используемые растворы до комнатной температуры. Избегайте нагрева образцов, так как результаты измерений зависят от температуры пробы; в частности, не держите в руках пробирки с образцами непосредственно перед измерениями на флуориметре.*

## Протокол

1. Приготовьте 1х ТЕ буфер из расчета, что на каждый образец и на каждый из двух стандартов потребуется 200 мкл буфера. Для этого разведите 20х концентрат ТЕ буфера в 20 раз деионизованной водой.
2. Приготовьте рабочий раствор красителя QuDye dsDNA HS из расчета, что на каждый образец и на каждый из двух стандартов потребуется около 200 мкл. Для этого разведите 200х концентрат красителя QuDye dsDNA HS в 200 раз 1х ТЕ буфером.

*Например, для измерения 3 образцов и 2 стандартов необходимо приготовить 200 мкл  $\times$  5 = 1000 мкл 1х ТЕ буфера и 1000 мкл рабочего раствора красителя (смешайте 5 мкл концентрата красителя QuDye dsDNA HS и 995 мкл 1х ТЕ буфера).*

*! Рабочий раствор красителя рекомендуется использовать в течение нескольких часов после приготовления. При проведении отсроченных измерений рекомендуется беречь от света готовый рабочий раствор красителя.*

*! Для приготовления рабочего раствора красителя используйте только пластиковую посуду. Стеклянная посуда может сорбировать на своих стенках краситель, что приведет к снижению концентрации красителя в образцах и искажению результатов измерений.*

3. Подготовьте две тонкостенные, оптически прозрачные 0.5 мл пластиковые

пробирки для стандартов и по одной пробирке для каждого измеряемого образца. Подпишите крышки пробирок (не делайте пометок на стенках пробирок, так как это может привести к некорректному определению интенсивности флуоресценции).

4. В каждую пробирку для стандартов внесите 190 мкл *рабочего раствора красителя QuDye dsDNA HS* и 10 мкл *стандарта #1* и *стандарта #2* соответственно. Перемешайте на вортексе 2–3 секунды, сбросьте капли.
5. В каждую пробирку для образцов внесите 180–199 мкл *рабочего раствора красителя QuDye dsDNA HS* и 20–1 мкл образца соответственно (конечный объём в каждой пробирке должен составить 200 мкл). Перемешайте на вортексе 2–3 секунды, сбросьте капли.

*Разведение исследуемого образца опционально и зависит от его исходной концентрации. Исходная концентрация образца должна соответствовать диапазону 10 пг/мкл–100 нг/мкл для измерений на флуориметре Qubit™. В то же время следует избегать использования маленьких объёмов при разбавлении исходного образца, поскольку неточность пипетирования маленьких объёмов может сказаться на результатах измерений.*

6. Инкубируйте все пробирки (содержащие стандарты и исследуемые образцы) 3–5 минут при комнатной температуре.
7. Проведите измерение интенсивности флуоресценции.

## Измерение интенсивности флуоресценции на флуориметре Qubit™

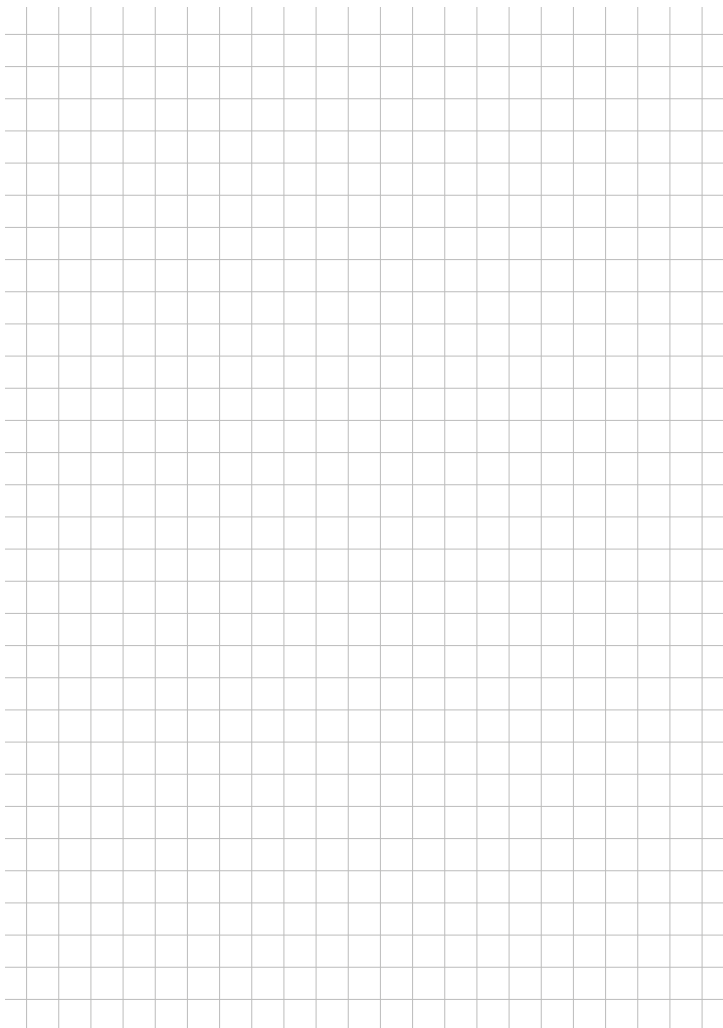
Следующие пункты следует выполнять согласно инструкции к флуориметру Qubit™. В зависимости от версии флуориметра пункты меню могут отличаться от приведенных ниже.

1. После включения прибора выберите пункт «dsDNA HS (DNA High Sensitivity)». Нажмите «Go».
2. При каждом новом приготовлении рабочего раствора красителя следует проводить калибровку флуориметра. Выберите пункт «Run new calibration» и нажмите «Go».
3. Поместите в гнездо пробирку, содержащую *стандарт #1*, закройте крышку, нажмите «Go». Когда прибор проведет измерение (около 3 сек), удалите пробирку со *стандартом #1*. Поместите в гнездо пробирку, содержащую *стандарт #2*, закройте крышку, нажмите «Go». Когда прибор проведет измерение, удалите пробирку со *стандартом #2*.
4. После успешного завершения калибровки поместите в гнездо пробирку с экспериментальным образцом, закройте крышку, нажмите «Go». На экране прибор покажет значение QF Value.

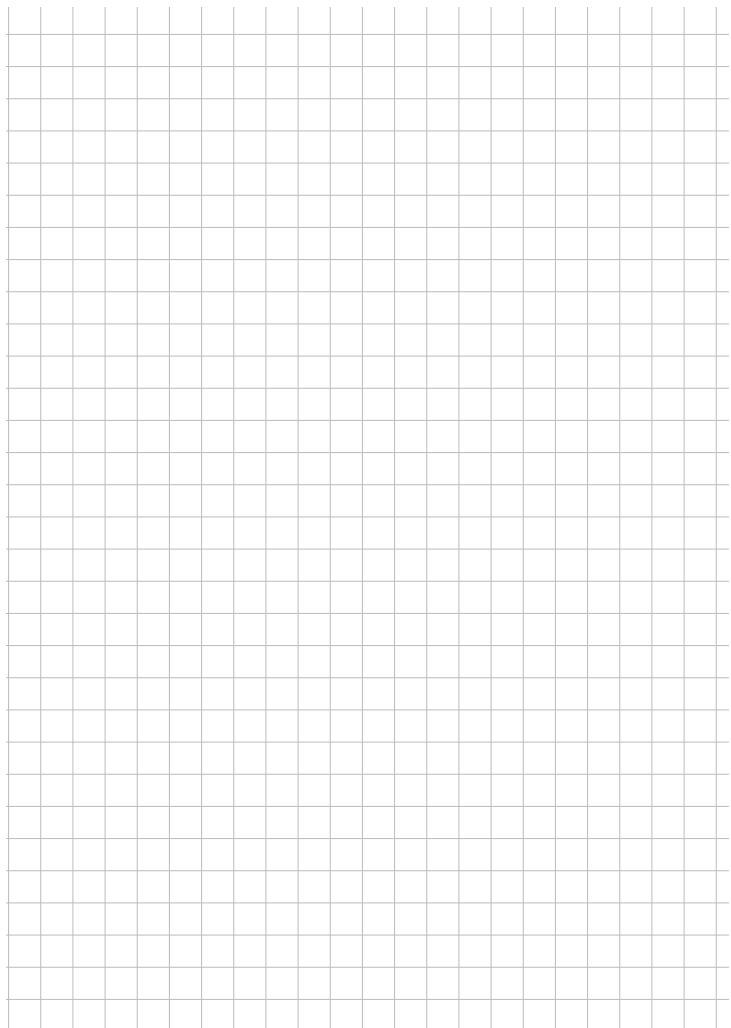
Рассчитайте концентрацию ДНК по формуле: Концентрация ДНК в образце = значение QF x 200/объем образца; или введите объем образца в прибор.

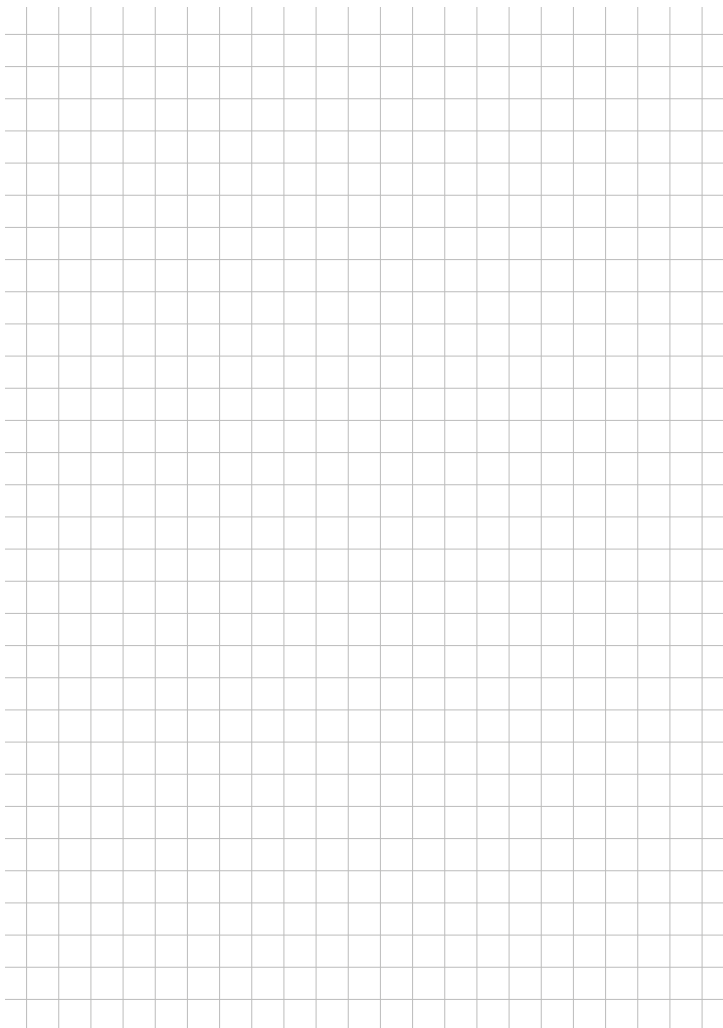
---

Qubit™ — зарегистрированная торговая марка Thermo Fisher Scientific











## **Lumiprobe Corporation**

(US and Worldwide)  
9:00AM - 9:00PM EST

201 International Circle, Suite 135  
Hunt Valley, Maryland 21030  
USA  
Phone: +1 888 973 63 53

## **Lumiprobe GmbH**

(Germany and Europe)  
8:00AM - 5:00PM CE(S)T

Feodor-Lynen-Strasse 23  
30625 Hannover  
Germany  
Phone: +49 511 16596811

## **Lumiprobe RUS Ltd**

(Russia and CIS)  
8:00 - 19:00 GMT+3 (Moscow)

Kotsyubinskogo 4, bld. 3  
121351 Moscow  
Russian Federation  
Phone: +7 800 775 3271



ISO 9001:2015  
Issued by TÜV NORD CERT GmbH

[www.lumiprobe.com](http://www.lumiprobe.com)