



QuDye dsDNA BR Assay Kit manual

Contents

English: QuDye dsDNA BR Assay Kit manual	3-7
Deutsch: Handbuch für das QuDye dsDNA BR Kit	8-12
Русский: Инструкция к набору QuDye dsDNA BR для определения количества двухцепочечной ДНК	13-17

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 BR Assay Kit manual

QuDye dsDNA BR Assay Kit (Broad Range) is intended for quantification of double-stranded DNA using Qubit™ fluorometer. QuDye dsDNA BR Reagent selectively binds to double-stranded DNA, so any RNA, single-stranded DNA, free nucleotides, or protein contaminants in the sample do not alter measurement results. Other minor contaminants such as salts, detergents, and solvents have a non-significant effect on measurements results. However, it is recommended to minimize or completely eliminate them in the sample. All the reagents are optimized for operations with Qubit™ fluorometer (all its versions) in the range of initial DNA concentrations from 100 pg/μL to 1000 ng/μL (the final amount of DNA after dilution of the initial sample is 2–1000 ng in 200 μL of the test sample). All measurements are performed at room temperature; fluorescence signal of samples is stable for 3 hours.

To determine the protein contaminants in the DNA sample, you can use QuDye dsDNA BR Assay Kit with **QuDye Protein Quantification Kit**.

Kit components

Kit component	Count		
	A9102 10 assays	19102 100 assays	12102 100 assays (incl. tubes)
28010, QuDye dsDNA BR Reagent, 200x, 30 uL	1	—	—
33115, Polypropylene tube (0.5 mL thin-walled transparent), 100 pcs	—	—	1
B9650, Quantitative standard, 0 ng/uL in TE buffer, 1 mL	1	1	1
B8650, dsDNA quantitative standard, 100 ng/uL in TE buffer, 1 mL	1	1	1
S4850, QuDye BR Buffer, 1x, 50 mL	1	1	1
5555F, QuDye dsDNA BR Assay Kit manual, 1 pcs	1	1	1
38010, QuDye dsDNA BR Reagent, 200x, 250 uL	—	1	1

Store at +4 °C. Warm up to +20 °C before use.

Shelf life 12 months.

! All measurements with QuDye dsDNA BR Assay Kit should be performed at room temperature (22–28 °C). Before starting, equilibrate all kit's solutions to room temperature. When using the kit on a regular basis, store QuDye dsDNA BR Reagent and QuDye BR Buffer at room temperature, standards — at +4 °C.

! Please note that fluctuations in sample temperature can significantly affect measurement results. Avoid warming the samples; particularly do not hold the assay tubes in your hands just before fluorescence measurement with a Qubit™ fluorometer. If being in the Qubit™ fluorometer chamber even for a short time, the tube with the sample gets warmer, so perform measurements just after placing the tube with the sample in the fluorometer chamber. If one sample has to be reread, the tube with the sample should be removed from the fluorometer just after reading and placed in the fluorometer chamber only when fluorescence is measured.

Protocol

1. Prepare *QuDye dsDNA BR 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 200× *QuDye dsDNA BR Reagent concentrate* 200-fold with *QuDye BR Buffer*.

For example, to measure 3 samples and 2 standards, prepare 200 µL x 5 = 1000 µL of dye working solution (mix 5 µL of QuDye dsDNA BR Reagent concentrate and 995 µL of QuDye BR 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 BR Reagent can adsorb to glass surfaces, which results in decreasing of the dye concentration in samples and biases in the measurement results.

2. 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.
3. To each of two tubes for standards add 190 μL of *QuDye dsDNA BR dye working solution* and either 10 μL of *Quantitative standard, 0 ng/ μL (Standard #1)* or *dsDNA quantitative standard, 100 ng/ μL (Standard #2)*. Vortex for 2–3 seconds and centrifuge briefly.
4. To each tube for samples add 180–199 μL of *QuDye dsDNA BR dye working solution* and 20–1 μL of test sample, respectively (the total volume in each tube should be 200 μL). Vortex for 2–3 seconds and centrifuge briefly. Make sure that bubbles have not been formed in the tube. If necessary, remove bubbles by centrifugation.

Dilution of the experimental sample is optional and depends on its initial concentration. The initial sample concentration can vary from 100 pg/ μL to 1000 ng/ μL ; however, after diluting with QuDye dsDNA BR dye working solution the amount of DNA should correspond to the measurement range of Qubit™ fluorometer (2–1000 ng of DNA in 200 μL of the test sample). Therefore, a sample with the minimal acceptable initial DNA concentration (100 pg/ μL) should be diluted 10-fold to 10 pg/ μL [put 180 μL of dye working solution and 20 μL of the sample (100 pg/ μL) in the assay tube, which corresponds to 2 ng of DNA]. A sample with the maximal acceptable initial DNA concentration (1000 ng/ μL) should be diluted 200-fold [put 199 μL of dye working solution and 1 μL of the sample (1000 ng/ μL) in the assay tube, which corresponds to 1000 ng of DNA]. However, avoid using too small volumes when diluting the initial sample in order to maintain accuracy and precision of your measurements.

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

Fluorescence measurement with a Qubit™ fluorometer

The next steps should be carried out according to the manual of the Qubit™ fluorometer. This manual is to be used with Qubit™ fluorometer version 2.0. 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 **DNA** as the assay type, then **dsDNA Broad Range**.
2. The software will automatically switch to the **Standards** tab. It is recommended to run fluorometer calibration whenever preparing a new dye working solution. You can use the previous calibration that you have performed before if all experiment conditions, including temperature in your laboratory, remain unchanged. In this case, press **No** on the **Standards** tab, and the software will switch to the **Sample** tab to measure fluorescence of the experimental samples. Proceed to item 3.

To run new calibration, press **Yes** in the **Standards** tab. Insert the tube containing *Standard #1* into the sample chamber, close the lid, then press **Read**. When reading is complete (~3 seconds), remove *Standard #1*. Insert the tube containing *Standard #2* into the sample chamber, close the lid, then press **Read**. When reading is complete, remove *Standard #2*. When calibration is complete, the software will proceed to the **Sample** tab to measure fluorescence intensity of the experimental samples.

3. In the **Sample** tab, insert the tube containing the experimental sample into the sample chamber, close the lid, then press **Read**. When measurement is complete, the software will show the QF value on the screen.

The QF value is DNA concentration after dilution of the initial sample in the assay tube. Calculate the initial DNA concentration using the formula:

Concentration of DNA in the initial sample (µg/mL) = QF value × 200/V,
where

- V (μL) is volume of the initial sample that was added to the assay tube (1–20 μL);
- QF is the measurement result on the fluorometer screen ($\mu\text{g}/\text{mL}$).

Repeat the procedure for all experimental samples.

To calculate DNA concentration in the initial sample you can also use «Dilution Calculator» in the fluorometer.

Qubit™ — is a trademark of Thermo Fisher Scientific

Handbuch für das QuDye dsDNA BR Kit

Das Kit QuDye dsDNA BR (Broad Range) dient der Konzentrationsbestimmung doppelsträngiger DNA mit dem Qubit™ Fluorometer. QuDye dsDNA BR Reagenz bindet selektiv an doppelsträngige DNA, sodass die Verunreinigungen in der DNA-Probe wie RNA, einzelsträngige DNA, Nukleotide, Proteine keinen Einfluss auf die Messergebnisse haben. Spuren anderer Verunreinigungen wie Salzen, Detergenzien oder Lösungsmitteln beeinflussen die Messergebnisse zwar kaum, es wird dennoch empfohlen, die Kontamination der Probe so gering wie möglich zu halten bzw. ganz zu vermeiden. Das Kit wurde für die Nutzung mit Qubit™ Fluorometern (alle Ausführungen) optimiert und hat einen Messbereich von 100 pg/μl bis 1000 ng/μl (die DNA-Endmenge sollte nach Verdünnung der Ausgangsprobe 2–1000 ng in 200 μl der zu messenden Probe betragen). Die Messungen werden bei Raumtemperatur durchgeführt, das Fluoreszenzsignal bleibt für drei Stunden stabil.

Für die Bestimmung von Protein-Verunreinigungen in einer DNA-Probe kann QuDye dsDNA BR Kit zusammen mit dem **QuDye Protein Quantifizierungskit** verwendet werden.

Bestandteile

Komponente	Anzahl		
	A9102 10 assays	19102 100 assays	12102 100 assays (incl. tubes)
28010, QuDye dsDNA BR Reagenz / QuDye dsDNA BR Reagent, 200x, 30 uL	1	—	—
33115, Polypropylen-Gefäß (dünnwandiges transparentes 0,5 mL), 100 pcs	—	—	1
B9650, Standard / Quantitative standard, 0 ng/ul in TE-Puffer, 1 mL	1	1	1
B8650, dsDNA-Standard / dsDNA quantitative standard, 100 ng/ul in TE-Puffer, 1 mL	1	1	1
S4850, QuDye BR Puffer, 1x, 50 mL	1	1	1
5555F, QuDye dsDNA BR Assay Kit manual, 1 pcs	1	1	1
38010, QuDye dsDNA BR Reagenz / QuDye dsDNA BR Reagent, 200x, 250 uL	—	1	1

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

Haltbarkeit: 12 Monate.

! Alle Messungen mit dem QuDye dsDNA BR Kit sind bei Raumtemperatur (22–28 °C) durchzuführen. Bringen Sie vor Arbeitsbeginn alle Komponenten des Kits ebenfalls auf Raumtemperatur. Es wird empfohlen bei ständigem Gebrauch des Kits den Farbstoff QuDye dsDNA BR und den QuDye BR Puffer bei Raumtemperatur, die Standards bei +4 °C zu lagern.

! Wir weisen darauf hin, dass sich die Temperaturschwankungen der Probe maßgeblich auf die Messergebnisse auswirken. Vermeiden Sie die Erwärmung der Proben, insbesondere halten Sie die Röhrchen nicht in den Händen unmittelbar vor den Fluoreszenzmessungen mit Qubit™ Fluorometer. Die Temperatur der Probe steigt selbst nach einer kurzen Verweilzeit im Probenraum des Qubit™ Fluorometers, führen Sie daher die Fluoreszenzmessung direkt nach dem Platzieren der Probe in den Probenraum des Fluorometers durch. Für eine eventuelle Wiederholungsmessung an der selben Probe entfernen Sie das Röhrchen mit der Probe nach der Messung umgehend aus dem Fluorometer und setzen Sie sie erneut in den Probenraum lediglich für die Dauer der Fluoreszenzmessung ein.

Verfahren

1. Setzen Sie QuDye dsDNA BR Farbstoffarbeitslösung an, wobei für jede Probe und jeden der 2 Standards 200 µl Farbstoffarbeitslösung benötigt werden. Die Farbstoffarbeitslösung erhalten Sie, indem Sie 200× QuDye dsDNA BR Farbstoffkonzentrat mit QuDye BR Puffer 200-fach verdünnen.

Stellen Sie beispielsweise zur Messung von 3 Proben und 2 Standards 200 µL x 5 = 1000 µl Farbstoffarbeitslösung her (legen Sie 5 µl QuDye dsDNA BR Farbstoffkonzentrat und 995 µl QuDye BR Puffer 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.

2. Bereiten Sie zwei 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).
3. Pipettieren Sie in jedes Standardröhrchen 190 μl *QuDye dsDNA BR Farbstoffarbeitslösung* und 10 μl *Quantitative standard, 0 ng/ μl (Standard #1)* bzw. *dsDNA quantitative standard, 100 ng/ μl (Standard #2)*. Vortexen Sie für 2–3 Sekunden und zentrifugieren Sie kurz an.
4. Pipettieren Sie in jedes Probenröhrchen 180–199 μl *QuDye dsDNA BR Farbstoffarbeitslösung* und 20–1 μl DNA-Probe (das Endvolumen in jedem Röhrchen soll 200 μl betragen). Vortexen Sie für 2–3 Sekunden und zentrifugieren Sie kurz an. Achten Sie bitte auf das luftblasenfreie Pipettieren. Zentrifugieren Sie ggf. kurz an, um Luftblasen zu entfernen.

*Die Verdünnung der DNA-Probe ist optional und hängt von der Ausgangskonzentration ab. Die Ausgangskonzentration der DNA-Proben kann im Bereich von 100 pg/ μl bis 1000 ng/ μl liegen. Die Endmenge der DNA sollte jedoch nach Verdünnung der Ausgangsprobe mit *QuDye dsDNA BR Farbstoffarbeitslösung* innerhalb des Messbereichs vom *Qubit™ Fluorometer* liegen, d. h. 2–1000 ng in 200 μl der zu messenden DNA-Probe. Somit muss die Ausgangsprobe mit einer minimal zulässigen DNA-Ausgangskonzentration von 100 pg/ μl 10-fach auf 10 pg/ μl verdünnt werden (mischen Sie dafür in einem Probenröhrchen 180 μl der Farbstoffarbeitslösung und 20 μl der Ausgangsprobe mit 100 pg/ μl , was 2 ng DNA entspricht); die Ausgangsprobe mit einer maximal zulässigen DNA-Ausgangskonzentration von 1000 ng/ μl muss 200-fach verdünnt werden (mischen Sie dafür in einem Probenröhrchen 199 μl der Farbstoffarbeitslösung mit 1 μl der Ausgangsprobe mit 1000 ng/ μl , das entspricht 1000 ng DNA). Dabei sollten kleine Pipettiervolumina zur Verdünnung der Ausgangsprobe vermieden werden, um die Genauigkeit und Präzision der Messungen zu gewährleisten.*

5. Inkubieren Sie alle Röhrcchen (mit Standards und DNA-Proben) für 3–5 Minuten bei Raumtemperatur.
6. Führen Sie Fluoreszenzmessungen durch.

Fluoreszenzmessung mit Qubit™ Fluorometer

Führen Sie die nachfolgenden Schritte gemäß der Anleitung für das Qubit™ Fluorometer durch. Diese Anleitung bezieht sich auf das Fluorometer Qubit™ 2.0. Je nach Ausführung des Fluorometers können sich Menüpunkte von den unten genannten unterscheiden.

1. Schalten Sie das Gerät ein und wählen Sie den Menüpunkt **DNA**, danach **dsDNA Broad Range**.
2. Das Gerät öffnet automatisch die Registerkarte **Standards**. Das Fluorometer ist nach jedem Ansetzen einer frischen Farbstoffarbeitslösung neu zu kalibrieren. Sie dürfen aber auch eine zuletzt gespeicherte Kalibrierung benutzen, wenn alle Messbedingungen inklusive der Temperatur im Labor gleich geblieben sind. Drücken Sie in diesem Fall **No** in der Registerkarte **Standards**. Das Gerät öffnet jetzt die Registerkarte **Sample**, in der nun die Fluoreszenzmessung der Proben erfolgen kann. Gehen Sie zum Schritt 3 über.

Um das Gerät neu zu kalibrieren, drücken Sie in der Registerkarte **Standards** auf **Yes**. Setzen Sie das Röhrcchen mit dem *Standard #1* in den Probenraum ein, schließen Sie den Deckel und drücken Sie **Read**. Entfernen Sie nach Ablesen der Messwerte (etwa 3 Sekunden) das Röhrcchen mit dem *Standard #1*. Setzen Sie nun das Röhrcchen mit dem *Standard #2* in den Probenraum ein, schließen Sie den Deckel und drücken Sie **Read**. Entfernen Sie nach Ablesen der Messwerte das Röhrcchen mit dem *Standard #2*. Nach Abschluss der Kalibrierung öffnet das Gerät die Registerkarte **Sample**, in der nun die Fluoreszenzmessung der Proben erfolgen kann.

3. Setzen Sie das Röhrcchen mit der DNA-Probe in den Probenraum ein, schließen Sie den Deckel und drücken Sie **Read** in der geöffneten Registerkarte **Sample**. Nach Abschluss der Messung wird auf dem Display der QF-Wert angezeigt.

Der QF-Wert gibt die DNA-Konzentration nach Verdünnung der Ausgangsprobe in einem Probenröhrchen an. Sie können die DNA-Konzentration in der Ausgangsprobe anhand der folgenden Formel berechnen:

DNA-Ausgangskonzentration ($\mu\text{g/ml}$) = QF-Wert \times 200/V, wo

- V (μl) — Volumen der Ausgangsprobe, das ins Probenröhrchen gegeben wurde (1–20 μl),
- QF — Messwert auf dem Display des Fluorometers ($\mu\text{g/ml}$).

Wiederholen Sie den Vorgang für alle zu messenden Proben.

Sie können die DNA-Ausgangskonzentration auch über den Rechner am Fluorometer («Dilution Calculator») ausrechnen.

Qubit™ ist eine Marke von Thermo Fisher Scientific

Инструкция к набору QuDye dsDNA BR для определения количества двухцепочечной ДНК

Набор QuDye dsDNA BR (Broad Range) предназначен для определения концентрации двухцепочечной ДНК на флуориметре Qubit™. Краситель QuDye dsDNA BR селективно связывается с двухцепочечной ДНК, поэтому присутствующие в образце примеси РНК, одноцепочечной ДНК, нуклеотидов и белков не влияют на результаты измерений. Другие примеси в незначительном количестве, такие как соли, детергенты и растворители оказывают несущественное влияние на результаты измерений, однако рекомендуется минимизировать или полностью исключить их присутствие в образце. Все поставляемые реагенты оптимизированы для работы на флуориметре Qubit™ (все версии флуориметра) в диапазоне исходной концентрации ДНК от 100 пг/мкл до 1000 нг/мкл (количество ДНК после разбавления исходного образца составляет 2–1000 нг в 200 мкл образца для измерения). Все измерения выполняются при комнатной температуре, уровень флуоресценции образцов стабилен в течение 3 часов.

Для определения в образце ДНК примеси белка набор QuDye dsDNA BR можно использовать в сочетании с набором QuDye для определения количества белка.

Состав набора

Компонент набора	Количество		
	A9102 10 assays	19102 100 assays	1Z102 100 assays (incl. tubes)
28010, Краситель QuDye dsDNA BR / QuDye dsDNA BR Reagent, 200x, 30 µL	1	—	—
33115, Пробирка тонкостенная (0.5 mL прозрачный полипропилен), 100 pcs	—	—	1
B9650, Стандарт / Quantitative standard, 0 нг/мкл в ТЕ буфере, 1 mL	1	1	1
B8650, Стандарт дцДНК / dsDNA quantitative standard, 100 нг/мкл в ТЕ буфере, 1 mL	1	1	1
S4850, Буфер QuDye BR, 1x, 50 mL	1	1	1
5555F, QuDye dsDNA BR Assay Kit manual, 1 pcs	1	1	1
38010, Краситель QuDye dsDNA BR / QuDye dsDNA BR Reagent, 200x, 250 µL	—	1	1

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

Срок хранения 12 месяцев.

! Все измерения с использованием набора QuDye dsDNA BR должны проводиться при комнатной температуре (22–28 °С). Перед началом работы тщательно прогрейте все используемые растворы до комнатной температуры. При регулярном использовании набора рекомендуется хранить краситель QuDye dsDNA BR и буфер QuDye BR при комнатной температуре, стандарты при температуре +4 °С.

! Обращаем Ваше особое внимание на то, что колебания температуры образца оказывают значительное влияние на результаты измерений. Избегайте нагрева образцов, в частности, не держите в руках пробирки с образцами непосредственно перед измерениями на флуориметре. Поскольку даже кратковременное нахождение пробирки с образцом в гнезде флуориметра Qubit™ способствует нагреву образца, проводите измерения флуоресценции сразу после того, как поместите пробирку с образцом в гнездо флуориметра. При необходимости повторного измерения одного и того же образца, следует извлекать пробирку с образцом из флуориметра сразу после измерения и помещать образец в гнездо флуориметра только на период измерения интенсивности флуоресценции.

Протокол

1. Приготовьте рабочий раствор красителя QuDye dsDNA BR из расчета, что на каждый образец и на каждый из двух стандартов потребуется около 200 мкл. Для этого разведите 200× концентрат красителя QuDye dsDNA BR в 200 раз буфером QuDye BR.

Например, для измерения 3 образцов и 2 стандартов необходимо приготовить 200 мкл × 5 = 1000 мкл рабочего раствора красителя (смешайте 5 мкл концентрата красителя QuDye dsDNA BR и 995 мкл буфера QuDye BR).

! 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. Стелянная посуда может сорбировать на своих стенках краситель, что приведет к снижению концентрации красителя в образцах и искажению результатов измерений.

2. 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).
3. В каждую пробирку для стандартов внесите 190 мкл *рабочего раствора красителя QuDye dsDNA BR* и 10 мкл *стандарта #1 (стандарт, 0 нг/мкл)* и *стандарта #2 (стандарт дцДНК, 100 нг/мкл)* соответственно. Перемешайте на вортексе 2–3 секунды, сбросьте капли.
4. В каждую пробирку для образцов внесите 180–199 мкл *рабочего раствора красителя QuDye dsDNA BR* и 20–1 мкл образца соответственно (конечный объём в каждой пробирке должен составить 200 мкл). Перемешайте на вортексе 2–3 секунды, сбросьте капли. Проследите, чтобы в пробирке не образовались пузыри — при необходимости избавьтесь от пузырей центрифугированием.

Разведение исследуемого образца опционально и зависит от его исходной концентрации. Исходная концентрация образца может находиться в диапазоне 100 пг/мкл—1000 нг/мкл; однако после разведения образца в рабочем растворе красителя QuDye dsDNA BR количество ДНК должно соответствовать диапазону измерения флуориметра Qubit™: 2–1000 нг ДНК в 200 мкл образца для измерения. Таким образом, образец с минимально допустимой исходной концентрацией ДНК 100 пг/мкл следует разбавить в 10 раз до 10 пг/мкл (в пробирку для измерения внесите 180 мкл рабочего раствора красителя и 20 мкл образца 100 пг/мкл, что соответствует 2 нг ДНК), а образец с максимально допустимой исходной концентрацией ДНК 1000 нг/мкл следует разбавить в 200 раз (в пробирку для измерения внесите 199 мкл рабочего раствора красителя и 1 мкл образца 1000 нг/мкл, что соответствует 1000 нг). В то же время следует избегать использования маленьких объёмов при разбавлении исходного образца, поскольку неточность

пипетирования маленьких объёмов может сказаться на результатах измерений.

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

Измерение интенсивности флуоресценции на флуориметре Qubit™

Измерение интенсивности флуоресценции следует выполнять согласно инструкции к флуориметру Qubit™. Данная инструкция приведена для версии флуориметра Qubit™ 2.0. В зависимости от версии флуориметра пункты меню могут отличаться от приведенных ниже.

1. После включения прибора выберите пункт **DNA**, затем **dsDNA Broad Range**.
2. Прибор автоматически переключится во вкладку **Standards**. При каждом новом приготовлении рабочего раствора красителя рекомендуется проводить новую калибровку флуориметра. Вы можете воспользоваться старой калибровкой, которую Вы проводили ранее, если все условия эксперимента, включая температуру в лаборатории, остались неизменными. В таком случае, находясь во вкладке **Standards**, нажмите **No**, и прибор перейдет во вкладку **Sample** для измерения интенсивности флуоресценции экспериментальных образцов. Переходите к п. 3.

Для снятия новой калибровки, находясь во вкладке **Standards**, нажмите **Yes**. Поместите в гнездо пробирку, содержащую *стандарт #1 (стандарт, 0 нг/мкл)*, закройте крышку, нажмите **Read**. Когда прибор проведет измерение (около 3 сек), удалите пробирку со *стандартом #1*. Поместите в гнездо пробирку, содержащую *стандарт #2 (стандарт дцДНК, 100 нг/мкл)*, закройте крышку, нажмите **Read**. Когда прибор проведет измерение, удалите пробирку со *стандартом #2*. После завершения калибровки прибор перейдет во вкладку **Sample** для измерения интенсивности флуоресценции экспериментальных

образцов.

3. Находясь во вкладке **Sample**, поместите в гнездо пробирку с экспериментальным образцом, закройте крышку, нажмите **Read**. После завершения измерения прибор покажет на экране значение QF.

Значение QF представляет собой концентрацию ДНК после разбавления исходного образца в пробирке для измерения. Рассчитайте исходную концентрацию ДНК по формуле:

Концентрация ДНК в исходном образце (мкг/мл) = значение QF x 200/V,
где

- V (мкл) — объем исходного образца, который был добавлен в пробирку для измерения (1-20 мкл),
- QF — результат измерения на экране флуориметра (мкг/мл).

Повторите процедуру для всех экспериментальных образцов.

Для расчета концентрации ДНК в исходном образце Вы также можете воспользоваться калькулятором на флуориметре («Dilution Calculator»).

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