

## СинКвант BR ДНК

### Набор реагентов для измерения концентрации двуцепочечной ДНК на флуориметрах *Qubit™* и *Qubit™ Flex Fluorimeter*

#### Краткая инструкция

| Компонент                                           | E-024-100 | E-024-250 | E-024-1250 |
|-----------------------------------------------------|-----------|-----------|------------|
| Реагент <i>SyDye BR</i> 200-кратный в ДМСО          | 100 мкл   | 250 мкл   | 1250 мкл   |
| СинКвант BR ДНК стандарт ДНК в ТЕ буфере 100 нг/мкл | 200 мкл   | 500 мкл   | 2500 мкл   |
| СинКвант BR ДНК стандарт ДНК в ТЕ буфере 0 нг/мкл   | 200 мкл   | 500 мкл   | 2500 мкл   |
| СинКвант BR ДНК буфер для измерения 1-кратный       | 20 мл     | 50 мл     | 250 мл     |

Набор реагентов «СинКвант BR ДНК» предназначен для измерения концентрации ДНК в диапазоне от 1 нг/мкл – до 1000 нг/мкл. Вносимый объём образца 1 – 20 мкл.

- Рекомендуемый режим хранения реагента *SyDye BR* -25°C – +25°C в тёмном месте (фольгированном пакете).
- Рекомендуемый температурный режим длительного (> 2 недель) хранения стандартов ДНК +2°C – +8°C.
- Допускается заморозка всех компонентов набора.
- После размораживания тщательно перемешивайте каждый компонент на вортексе в течение 5 – 10 секунд.
- Избегайте множественных циклов оттаивания/замораживания стандартов ДНК.
- Перед началом измерений необходимо прогреть все реактивы до комнатной температуры. Рекомендуемая температура для проведения измерений +18°C – +25°C. Колебания температуры при измерении могут влиять на точность и воспроизводимость.

**Важно!!!** Не оставляйте препарат ДНК, окрашенный реагентом *SyDye BR* на длительное время в освещённом месте, не подвергайте воздействию яркого света перед проведением измерений. Это может негативно сказаться на точности и воспроизводимости измерений.

Данный протокол позволяет выполнить измерение концентрации ДНК на приборах *Qubit™ Fluorimeter* и *Qubit™ Flex Fluorimeter* (ThermoFisher Scientific, США). Для проведения калибровки и измерения ознакомьтесь с руководством к приборам.

## Подготовка образцов и стандартов к измерению на приборах серии Qubit™ Fluorimeter.

1. Установите в штативе необходимое количество по числу измеряемых образцов тонкостенных прозрачных пластиковых пробирок (плюс две пробирки для стандартов) объемом 0.6 мл (для измерений на приборе Qubit™ Fluorimeter) или 8 x 200 мкл стрипованных пробирок (например кат. № T-200str; Синтол, Россия) для измерения на приборе Qubit™ Flex Fluorimeter.
2. Сделайте отметки несмываемым маркером на крышках пробирок. Не допускается размещение надписей на боковых стенках пробирок.
3. Пометки на пробирках, содержащих стандарты ДНК, должны отличаться, т.к. для успешной калибровки важен порядок измерения стандартов.
4. Приготовьте рабочий раствор («PP») для измерений. Для этого в отдельном флаконе растворите (смешайте) Реагент SyDye BR (раствор красно-оранжевого цвета из пробирки объемом 2 мл) в СинКвант BR ДНК буфере (бесцветный раствор в 50 мл или 125 мл флаконе) в соотношении 1:200 по следующей схеме:

| Количество измерений (пример) | Реагент SyDye<br>BR | СинКвант BR ДНК буфер |
|-------------------------------|---------------------|-----------------------|
| 1                             | 1 мкл               | 199 мкл               |
| 3                             | 3 мкл               | 597 мкл               |
| 10                            | 10 мкл              | 1990 мкл              |

**Важно!!!** «PP» пригоден для использования в течение следующих 3 часов при условии содержания его в затемнённом прохладном месте.

5. Добавьте в каждую пробирку для измерения «PP» так, чтобы конечный объем после внесения измеряемой ДНК составлял 200 мкл:

| Количество измерений | Стандарт 0 нг/мкл и 100 нг/мкл | Образец     |
|----------------------|--------------------------------|-------------|
| Объем PP             | 190 мкл                        | 180-199 мкл |
| Объем стандарта      | 10 мкл                         | –           |
| Объем образца        | –                              | 1 – 20 мкл  |
| Конечный объем       | 200 мкл                        | 200 мкл     |

**Важно!!!** Конечный объем в пробирке должен быть 200 мкл. Объем вносимого стандарта должен быть 10 мкл. Таким образом, для калибровочного измерения необходимо смешать 10 мкл стандарта и 190 мкл приготовленного «PP». Калибровка производится по двум точкам: сначала измеряют стандарт с концентрацией 0 нг/мкл, затем 100 нг/мкл, – приготовленных в отдельных пробирках с конечным объемом 200 мкл в каждой. Объем вносимого образца ДНК может быть от 1 мкл до 20 мкл. Конечный объем при измерении также должен составлять 200 мкл. После внесения ДНК (стандарта или измеряемого образца) необходимо интенсивно встряхивать пробирку на вортексе в течение 10-15 секунд, затем сбросить капли.

6. Добавьте по 10 мкл каждого стандарта в соответствующую пробирку.
7. Добавьте 1-20 мкл каждого образца в соответствующую пробирку.
8. Встряхните на центрифуге-вортексе в течение 10-15 секунд. Сбросьте капли из-под крышки пробирки кратким центрифугированием.
9. Проследите, чтобы в растворе не оставалось воздушных пузырьков и капель жидкости на стенках пробирки. При необходимости удалите их при помощи центрифугирования.
10. Полученные растворы проинкубируйте не менее 3 минут в затемнённом месте при комнатной температуре. Образцы готовы к проведению измерений в течение следующих 2 часов при условии содержания его в затемнённом месте.

### *Измерение образцов и стандартов на Qubit™ Fluorimeter.*

1. Для выполнения измерения выберите режим «dsDNA», затем «dsDNA Broad Range». Для использования предыдущей калибровки нужно перейти к п. 4. Для новой калибровки – п. 2.
2. Выберите команду «Read standards», установите в камеру для измерения пробирку, содержащую подготовленный «Standard #1» – СинКвант BR ДНК стандарт ДНК в СинКвант BR ДНК буфере 0 нг/мкл. Закройте крышку камеры, выберите команду «Read standard». По окончании измерения (около 3 секунд) извлеките пробирку.
3. Установите в камеру для измерения пробирку, содержащую подготовленный «Standard #2» – СинКвант BR ДНК стандарт ДНК в СинКвант BR ДНК буфере 100 нг/мкл. Закройте крышку камеры, выберите команду «Read standard». По окончании измерения (около 3 секунд) извлеките пробирку.
4. Выберите команду «Run samples». При помощи интерактивного меню введите значение объёма исходного раствора ДНК, смешанного с «PP» для измерения (допустимые значения 1  $\mu\text{L}$  – 20  $\mu\text{L}$ ).
5. Установите в камеру для измерения пробирку, содержащую подготовленный образец. Закройте крышку камеры, выберите команду «Read tube». По окончании измерения (около 3 секунд) извлеките пробирку.
6. Запишите измеренное значение концентрации ДНК.

### *Измерение образцов и стандартов на Qubit™ Flex Fluorimeter.*

1. Для выполнения измерения выберите на дисплее режим «dsDNA Broad Range (BR)». Затем выберите команду «Read standards & run samples». Если вы предпочитаете использовать результаты предыдущей калибровки, то нужно выбрать режим «Run samples» и переходить к п. 4. Для новой калибровки – перейти к п. 2.
2. Установите в камеру для измерения стрипованные пробирки, содержащие подготовленный «Standard #1» – СинКвант BR ДНК стандарт ДНК в СинКвант BR ДНК буфере 0 нг/мкл. Закройте крышку камеры, выберите команду «Run standards». По окончании измерения (около 3 секунд) извлеките пробирки.

3. Установите в камеру для измерения пробирки, содержащие подготовленный «**Standard #2**» – СинКвант BR ДНК стандарт ДНК в СинКвант BR ДНК буфере 100 нг/мкл. Закройте крышку камеры, выберите команду «**Run standards**». По окончании измерения (около 3 секунд) извлеките пробирки.
4. Выберите появившуюся на экране команду «**Next**». После запроса вставьте стрипованные пробирки с вашими образцами как показано на экране. Если пробирок для измерения меньше восьми, то нужно снять выделение с позиций, не содержащих образец.
5. Выберите единицы размерности концентраций образцов.
6. При помощи интерактивного меню «**Sample volume**» введите значение объёма исходного раствора ДНК, смешанного с «**PP**» для измерения (допустимые значения **1  $\mu$ L – 20  $\mu$ L**).
7. Установите в камеру для измерения пробирки, содержащие подготовленные образцы. Закройте крышку камеры, выберите команду «**Run samples**». По окончании измерения (около 3 секунд) извлеките пробирки. Для измерения следующих образцов выберите команду «**Add samples**»
8. Перейдите в режим отображения результатов измерений в виде списка, сохраните измеренные значения концентрации ДНК.

-----

-----

-----

-----

-----

-----

-----

-----

-----

-----

-----

-----

-----

-----

-----

-----

-----

-----

-----

-----

*Поддержка пользователей:*

Для получения технической поддержки,  
обращайтесь по email: [syntol@syntol.ru](mailto:syntol@syntol.ru)

*Информация о производителе:*

ООО «НПФ Синтол» e-mail: [syntol@syntol.ru](mailto:syntol@syntol.ru), [www.syntol.ru](http://www.syntol.ru)

РФ, 125499, г. Москва, Кронштадтский б-р, д. 39 корп. 1, пом. 1 ком. 43/PM 12-3

**REF** E024-100 / E024-250 / E024-1250

