



# DNA Quantity Kit

Catalog No. AK06

March 31, 2020

## Introduction

The DNA Quantity Kit (Cat.No.PMC-AK06-COS) is designed to quantify DNA directly from cell culture. DNA can be quantified without purification process from cell culture as Color Development Reagent binds to cellular double stranded DNA and emits blue fluorescence at 458 nm.

## Components

### Component Quantity Storage

Color Development Reagent 10 mL 4°C

Dilution Buffer 150 mL × 2 4°C

DNA Standard (100 g/ ml) 2 mL 4°C

## Additional Materials Required

- Purified water
- Fluorometer
- Phosphate Buffered Saline (PBS)

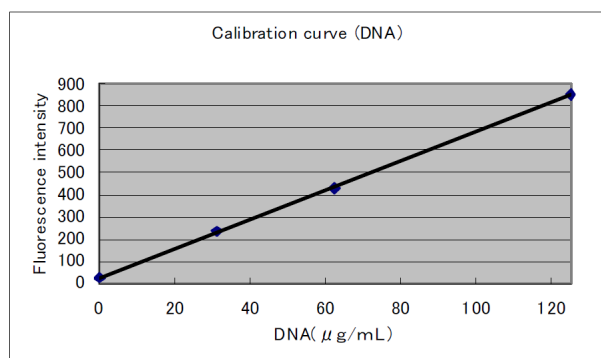
## Preparation of Standard Curve

### 1. Standard sample preparation

Dilute the stock DNA Standard (100 mg/mL) to 50, 25, 12.5 and 0 mg/mL with purified water.

Diluted sample standards can be stored frozen at -20°C.

2. Transfer each 50 ul of standard sample to new tubes.
3. Add 1ml Dilution Buffer to each standard sample and mix well.
4. Add 50 ul of Color Development Reagent to each tube.
5. Mix thoroughly.
6. Measure fluorescence. (Excitation wavelength at 356nm, emission wavelength at 458nm)
7. Calibration curve (DNA)



## Sample Analysis (24well plate format)

1. Remove culture medium and rinse the culture plate with Phosphate Buffered Saline (PBS).
2. Remove PBS and add 500 ul of dilution buffer to each well.
3. Sonicate cells until completely homogenated.
4. Transfer 50 ul of homogenate sample to new tube.
5. Add 1ml of Dilution Buffer to each tube and mix well.
6. Add 50 ul of Color Developer to each tube.
7. Mix thoroughly.
8. Measure fluorescence. (Excitation wavelength at 356nm, emission wavelength at 458nm)

## References

- (1) Kalgaonkar, S., Nishioka, H., Gross, H. B., Fujii, H. Keen, C. L., Hackman, R. M. Bioactivity of a Flavanol-rich Lychee Fruit Extract in Adipocytes and Its Effects on Oxidant Defense and Indices of Metabolic Syndrome in Animal Models. *Phytother. Res.* 24, 1223-1228 (2010)
- (2) Okura, H., Komoda, H., Saga, A., Kakuta-Yamamoto, A., Hamada, Y., Fumimoto, Y., Lee, CM., Ichinose, A., Sawa, Y., Matsuyama, A. Properties of Hepatocyte-like Cell Clusters from Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Tissue Eng. Part C Methods.* 16, 761-70 (2010)
- (3) Saito, Y., Goto, M., Maya, K., Ogawa, N., Fujimori, K., Kurokawa, Y., Satomi, S. The Influence of Brain Death on Tissue Factor Expression in the Pancreatic Tissues and Isolated Islets in Rats. *Transplant. Proc.* 41, 307-310 (2009)

### Notice to Purchaser

This product is to be used for Research Purposes Only. It is not to be used for Drug or Diagnostic Purposes, nor is it intended for Human Use. Primary cell products may not be resold, modified for resale, or used to manufacture commercial products without the express written consent of Primary Cell Co., Ltd.

Except as otherwise expressly set forth in this use manual, Primary Cell does not make any representation or warranties or conditions of any kind, either express or implied, with respect to the products, or information disclosed hereunder, including, but not limited to, the implied warranties of merchantability, fit for a particular purpose, or noninfringement of the intellectual property rights of third parties.



**COSMO BIO Co., LTD.**

**[JAPAN]**

TOYO EKIMAE BLDG. 2-20, TOYO 2-CHOME,  
KOTO-KU. TOKYO 135-0016, JAPAN  
Phone: +81-3-5632-9610  
FAX: 81-3-5632-9619  
URL: <https://www.cosmobio.co.jp/>



**COSMO BIO USA**

**[Outside Japan]**

2792 Loker Ave West, Suite 101  
Carlsbad, CA 92010, USA  
email: [info@cosmobioussa.com](mailto:info@cosmobioussa.com)  
Phone/FAX: (+1) 760-431-4600  
URL: [www.cosmobioussa.com](http://www.cosmobioussa.com)

**For research use only. Not for clinical diagnosis.**



# DNA 定量キット

## (DNA Quantity kit, Code No. AK06)

202 年 3 月 31 日改訂

※本品は、研究目的にのみご使用ください。

培養細胞を用いた実験系の規準化する上で使用した細胞量を計測する必要があります。細胞数の測定は血球計算盤を使用したカウントが広くおこなわれていますが、接着細胞では多くの操作を伴います。

本キットは、2 本鎖 DNA と蛍光色素 Hoechst33258 との intercalate することを利用し、細胞内 DNA を精製する必要なく、細胞ホモジネート液に発色液を加えるだけで細胞内 DNA 量を簡便かつ迅速に定量することができます。

### 《I-1. キット構成》

内 容	容量	本数	保存温度	取扱上の注意
発色液 Color Development Reagent	10 ml	1 本	4 ~ 10℃	取扱う際には眼鏡・手袋などの保護具を着用の上、人体の接触を避けるよう十分に配慮してください。
緩衝液 Dilution Buffer	150 ml	2 本	4 ~ 10℃	
標準液 (100 $\mu$ g/ml) DNA Standard	2 ml	1 本	4 ~ 10℃	

※本製品は、24well プレートで培養の場合 200 検体 (200 well 分) を測定することができます (ただし細胞種や細胞密度によって測定できる検体数は変わります)。

※PBS、精製水を別途にご用意願います。

※本製品の測定は、蛍光 (蛍光試薬 Hoechst33258) を測定できる測定機器が必要になります。

### 《I-2. キットの特徴》

- ・培養細胞の DNA 量を簡便に定量できる

### 《II. 測定方法》

- (1) 目的の細胞を培養した 24well プレートをご用意ください。
- (2) ウェル内の培養液を除去し、PBS で 1 回洗浄してください。
- (3) 1 ウェルあたり 0.5ml の緩衝液を加えて、超音波破碎機で細胞を冷却しながら破碎してください。  
破碎した溶液を細胞ホモジネート液とします。
- (4) 標準液 (DNA 100  $\mu$  g/ml) を精製水で希釈し、100  $\mu$  g/ml (原液)、50  $\mu$  g/ml、25  $\mu$  g/ml、12.5  $\mu$  g/ml、0  $\mu$  g/ml になるようにスタンダードを調製してください。スタンダードを長期保存する場合は、冷凍 (-20℃) で保存してください。
- (5) スタンダードまたは細胞ホモジネート液 50  $\mu$  l をマイクロテストチューブに移し、これに緩衝液 1ml を加えよく混合した後、さらに発色液 50  $\mu$  l 加えてよく攪拌してください。
- (6) 上記反応溶液を蛍光分光光度計もしくは蛍光プレートリーダーにて、励起フィルター (Excitation filter) : 356nm, 蛍光フィルター (Emission filter) : 458nm で蛍光を測定してください。蛍光分光光度計の場合は石英セル、蛍光プレートリーダーの場合はブラックプレートをご使用ください。

※試料を測定した蛍光強度が検量線の範囲を越える場合は、細胞ホモジネート液を緩衝液で希釈して測定してください。

### 《Ⅲ. DNA 定量の例》

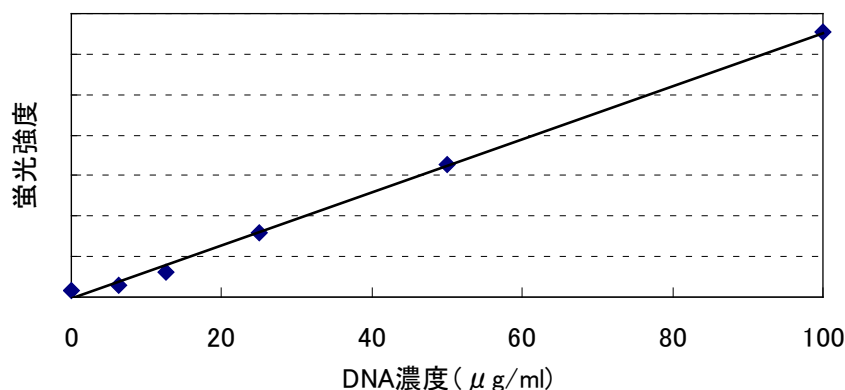


図 1. 標準液で作製した検量線の例

《本製品をご利用になられた文献、発表データ》

本製品をご利用いただいて投稿された論文、学会発表パネルなどを送付いただきましたお客様に粗品を進呈させていただきます。ご提供いただきました論文などは、WEB やカタログ、技術資料を通じて多くの研究者の方への技術情報として利用させていただく場合がございます。是非皆様のご協力をお願いいたします。

送付先：〒047-0261 北海道小樽市銭函 3 丁目 513 番 2  
コスモ・バイオ株式会社 札幌事業部 あて郵送  
または primarycell@cosmobio.co.jp あて PDF ファイル送信



コスモ・バイオ株式会社  
COSMO BIO CO., LTD.

〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル  
URL : <http://www.cosmobio.co.jp/>

● 営業部（お問い合わせ）

TEL : (03) 5632-9610 FAX : (03) 5632-9619  
TEL : (03) 5632-9620

● 札幌事業部（技術的なお問い合わせ）

TEL : (0134) 61-2301 FAX : (0134) 61-2295  
E-mail : primarycell@cosmobio.co.jp