



DNA Quantity Kit

Catalog No. AK06

July 1, 2024

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

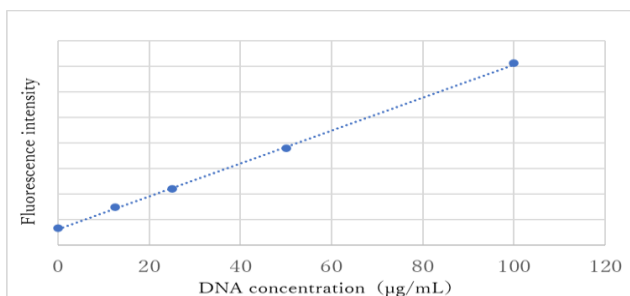
1. Standard sample preparation

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)

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)

一般研究用キット

DNA 定量キット

(DNA Quantity kit, 品番 : AK06)

2024年7月1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
発色液 Color Development Reagent	10 ml	1本	4~10℃
緩衝液 Dilution Buffer	150 ml	2本	4~10℃
標準液 (100 μ 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(200well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 μ g/ml)を精製水で希釈し、100 μ g/ml(原液)、50 μ g/ml、25 μ g/ml、12.5 μ g/ml、0 μ 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 μ 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 μ 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

高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》

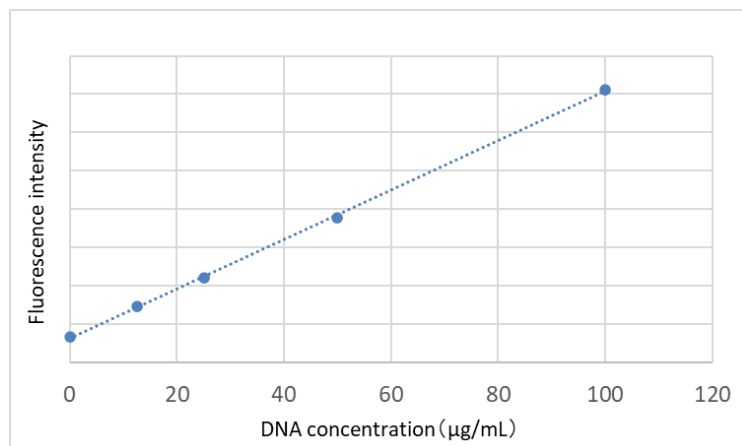


図 1. 標準液で作製した検量線の例

《Ⅳ. 参考文献》

- (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)