

Picogreen 双链 DNA 定量试剂

Picogreen dsDNA Quantitation Reagent

产品编号	产品名称	包装规格
NBS5182-100ul	Picogreen dsDNA Quantitation Reagent Picogreen 双链 DNA 定量试剂	100ul
NBS5182-500ul		5×100ul
NBS5182-1ml		10×100ul

产品简介:

Picogreen 是一种极为灵敏的荧光核酸染料，常用于双链 DNA 的定量检测。历来 DNA 浓度的测定在 cDNA 文库的构建，DNA 亚克隆、PCR 产物的估测等领域中具有重要意义，疫苗等生物制品中残留微量 DNA 的检测更是直接关系到人类的健康。

Picogreen dsDNA 定量检测：Picogreen 仅在与 DNA 双链结合后才发出荧光，且所产生的荧光与 DNA 浓度呈正比，在存在 ssDNA、RNA 和单体核苷酸的条件下，可以选择性地检测低至 25pg/ml 的 dsDNA。该分析在三个数量级范围内呈线性，且几乎无序列依赖性，可以精确地测量多个来源的 DNA，包括基因组 DNA、病毒 DNA、小量提取 DNA 或 PCR 扩增产物。

相比传统的方法，Picogreen dsDNA Quantitation Reagent 定量具有以下优势：①灵敏度高：数量级较 UV 吸光读数更敏感，可节省宝贵的样品；②特异性强：在等摩尔的 RNA 存在的条件下，对 dsDNA 具有特异性；③耐受性好：耐受较高浓度的盐、尿素、乙醇、氯仿、去垢剂、蛋白或琼脂糖，可以直接定量 PCR 扩增产物而无需从反应混合物中纯化 DNA。④易于使用——只需在样品中加入染料，等待 5 分钟，然后读数即可，且适用于 96 和 384 孔板；与大多数基于荧光的酶标仪和荧光计兼容。⑤适用范围广：可适用于 PCR 的分析、芯片样品、DNA 损伤分析、酶活性分析、基因组 DNA 定量以及复杂混合物中 dsDNA 的检测和病毒 DNA 定量等多种领域。

我司可根据用户需求提供多种规格的 Picogreen 双链 DNA 定量试剂 (Picogreen dsDNA Quantitation Reagent), 本品以溶于 DMSO 的母液形式提供, 浓度为 ~1mg/ml。也有提供成套试剂盒 (CAS#NBS5183), 试剂盒内若按照 2ml 反应体系来计算 (比色皿), 10×100 μL 规格可做 100 次反应; 若按照 200μl 反应体系来计算 (96 孔板), 10×100 μL 规格可做 1000 次反应; 单次反应体系取决于荧光检测仪器。

产品组成:

名称	编号	规格
Picogreen dsDNA Quantitation Reagent (200× in DMSO)	NBS5182-100ul	100ul
	NBS5182-500ul	5x100ul
使用说明书	1 份	

保存条件:

-20°C避光密封保存, 有效期 2 年。

产品使用:

一、PicoGreen (2×)工作液配制

使用前将 PicoGreen dsDNA 定量试剂回温至室温; PicoGreen 是以 100μL 200×的浓缩液形式保存于无水 DMSO 中。实验当天, 根据实验需求用 1×TE 按 1:100 的比例稀释适量母液到 PicoGreen (2×)。

例如: 要准备足够的操作溶液以 2ml 检测体系测定 20 个样品, 可向 19.8mL 1×TE 中加入 200μL PicoGreen dsDNA 定量试剂 (200×)。

【注意】: a) 由于试剂容易吸附到玻璃表面, 要在塑料容器中配制。b) PicoGreen 见光易降解, 所以应将配好的溶液用铝箔包住或放置暗处避光保存。c) 溶液最好在配制好数小时内使用, 以保证最佳结果。d) Picogreen 的最终工作浓度建议为 1×; 用户也可根据实际情况调整此浓度, 比如: 最终工作浓度调低到 0.5×。

二、检测步骤

2.1 Lambda DNA standard (200ng/ml)的配制

用 1×TE 对 λ DNA standard (10μg/ml) 进行 50 倍稀释。比如, 向 10μl λ DNA standard (10μg/ml) 加入 490μl 1×TE 混匀, 此时标准品浓度为 200ng/ml;

2.2 标准曲线的制备

【注意】: 根据 2010 年《中国药典》所提, PicoGreen 定量 DNA 的方法检出限~0.3ng/ml。DNA 含量在 1.25-80ng/ml 范围内线性较好 ($R^2 > 0.99$), 因此, 在此范围内设置浓度梯度, 建议标准曲线较好。

● 比色皿体系检测 (2ml)

a、按照表 1 向一次性微量比色皿中加入 TE 和 λ DNA standard (200ng/ml), 通过梯度稀释获得相应浓度的标准溶液, 随后加入 1ml PicoGreen (2×) 定量试剂, 混匀后, 于室温避光孵育 2-5min, 并以 1×TE 缓冲液为 blank。**【注意】:** 确信不要在样品中引入气泡, 轻轻地弹微量检测皿的外部, 可以驱散气泡。

表 1 比色皿体系所需加入各组分量及标准品终浓度表

TE 体积(μL)	λ DNA standard (μl)	PicoGreen (2×) (μl)	λ DNA standard 终浓度
0	1000 (200ng/ml)	1000	100ng/ml
200	800 (200ng/ml)	1000	80ng/ml
400	600 (200ng/ml)	1000	60ng/ml
600	400 (200ng/ml)	1000	40ng/ml
800	200 (200ng/ml)	1000	20ng/ml
900	100 (200ng/ml)	1000	10ng/ml
950	50 (200ng/ml)	1000	5ng/ml
1000	0 (200ng/ml)	1000	0ng/ml (blank)

b、于荧光仪中检测各浓度荧光值, $Ex/Em = \sim 480nm/520nm$ 。

【注意】: 为了确保荧光读数在荧光仪的检测范围内, 应调节增益使含最高 DNA 浓度的样品荧光值接近荧光仪的最大值; 为了减少光漂白, 应保持所有样品的检测时间一致。

c、各浓度标准溶液得到的荧光值减去空白对照荧光值, 之后对 DNA 浓度和荧光值做标准曲线。

d、测量待检样本的荧光值。根据荧光值和所建立的标准曲线, 来确定样本 DNA 的浓度。

● 微孔板体系检测 (200μl)

a、按照表 2 向 96 孔板中加入 TE 和 λ DNA standard (200ng/ml), 通过梯度稀释获得相

应浓度的标准溶液，随后加入 100 μ l PicoGreen (2 \times)定量试剂，混匀后，于室温避光孵育 2-5min，并以 1 \times TE 缓冲液为 blank。【注意】：确信不要在样品中引入气泡，轻轻地弹微孔板的外部，可以驱散气泡。

表 2 酶标板体系所需加入各组分量及标准品终浓度表

TE 体积(μ L)	λ DNA standard (μ l)	PicoGreen (2 \times) (μ l)	λ DNA standard 终浓度
0	100 (200ng/ml)	100	100ng/ml
20	80 (200ng/ml)	100	80ng/ml
40	60 (200ng/ml)	100	60ng/ml
60	40 (200ng/ml)	100	40ng/ml
80	20 (200ng/ml)	100	20ng/ml
90	10 (200ng/ml)	100	10ng/ml
95	5 (200ng/ml)	100	5ng/ml
100	0 (200ng/ml)	100	0ng/ml (blank)

b、于荧光酶标仪中检测各浓度荧光值，Ex/Em= \sim 480nm/520nm。

【注意】：为了确保荧光读数在荧光仪的检测范围内，应调节增益使含最高 DNA 浓度的样品荧光值接

近荧光仪的最大值；为了减少光漂白，应保持所有样品的检测时间一致。

c、各浓度得到的荧光值减去空白对照荧光值，之后对 DNA 浓度和荧光值做标准曲线。

d、测量待检样本的荧光值。根据荧光值和所建立的标准曲线，来确定样本 DNA 的浓度。

注意事项：

1. Picogreen 定量试剂含有 DMSO (已知有毒试剂)，请小心操作。
2. 尽管目前尚未有数据表明 Picogreen 具有诱变性和毒性，但是该试剂能结合双链 DNA，请操作时务必小心。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其他用途！