

Picogreen dsDNA Quantitation Reagent

双链 DNA (dsDNA) 定量试剂

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Picogreen dsDNA Quantitation Reagent 双链 DNA (dsDNA) 定量试剂	12641ES01	100 μ L
	12641ES02	5 \times 100 μ L
	12641ES03	10 \times 100 μ L
	12641ES04	1 mL

产品描述

Picogreen 是一种极为灵敏的荧光核酸染料，其仅在与 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，因而可用于精确测量多个来源的 dsDNA，包括基因组 DNA、病毒 DNA、PCR 扩增产物、测序文库等。

本产品 Picogreen dsDNA Quantitation Reagent 定量具有以下优势：①灵敏度高：可检测低至 200 pg 的 dsDNA，节省宝贵样品；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。

运输和保存方法

室温运输。-20 $^{\circ}$ C 避光密封保存，有效期 2 年。

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. 为了您的健康，实验操作时请穿实验服和戴一次性手套。
4. 本产品仅用作科研用途！

应用实例

【注】：本方法参照 2010《中国药典》进行操作。

1. 染料工作液的配置

PicoGreen dsDNA 定量试剂取出后回温至室温，该试剂是以 100 μ L 200 \times 的浓缩液形式保存于无水 DMSO 中的。实验当天，根据实验用量用 1 \times TE（10 mM Tris-HCl，1 mM EDTA，pH 7.5）按 1:200 的比例稀释 PicoGreen 浓缩液。

【注】：1) 由于试剂容易吸附到玻璃表面，要在塑料容器中配制。

2) PicoGreen 试剂见光易降解，所以应将配好的溶液用铝箔包住或放置暗处避光保存。

3) 溶液最好在配制好数小时内使用，以保证最佳结果。

2. 标准品工作液的配制

取 λ DNA 标准品，用无菌 TE buffer 配制成 100 μ g/mL 的标准品工作液。

【注】：标准品也可用其他已知浓度的纯化 DNA；有一些产品描述可使用小牛胸腺 DNA 作为标准品，按照我们实际操作经验，并不推荐它作为标准品。

3. 标准品工作液稀释

- 1) **母液稀释:** 使用 TE 缓冲液将 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准品稀释为 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。
- 2) **梯度稀释:** 参照表 1, 对 DNA 标品母液进行梯度稀释。

表 1 标曲制作

TE 体积 (μL)	2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ DNA 标准品母液 (μL)	Picogreen 染料工作液 (μL)	DNA 标准品终浓度
0	1,000	1,000	1 $\mu\text{g}/\text{mL}$
900	100	1,000	100 ng/mL
990	10	1,000	10 ng/mL
999	1	1,000	1 ng/mL
1,000	0	1,000	Blank

- 3) **标准曲线的制备:** 向经稀释的各梯度标准品溶液中加入 1 mL 染料工作液混匀, 避光室温孵育 5 min。使用酶标仪或荧光计检测荧光强度 ($E_x=480 \text{ nm}$, $E_m=520 \text{ nm}$); 将溶液加入比色皿或取 200 μL 加入微孔板, 确信不要在样品中引入气泡; 以 1 \times TE 缓冲液空白对照, 测定标准品荧光值; 用标准品溶液的浓度 (ng/mL) 对应的荧光强度作直线回归, 制备标准曲线。
- 4) **测量剩余样品的荧光值:** 荧光计将给出一个直接的浓度读数, 数据可以用来产生 DNA 浓度的标准曲线。