

产 品 说 明 书

PicoGreen™ 核酸荧光染料

产品货号: BN12023

产品规格: 1 mL

储存条件

4℃避光保存, 有效期见外包装。

产品参数

Ex/Em: 480/520 nm (结合 dsDNA)

产品介绍

PicoGreen是荧光检测dsDNA并进行定量的一种产品, 这种方法非常灵敏。常用于分子生物学技术: cDNA文库的构建、亚克隆的DNA片段纯化及应用, 比如进行DNA定量、产物扩增和引物的进一步检测。常规的DNA含量的检测方法是在260 nm处测其吸光值。这种方法的主要缺点是核苷酸、单链核酸和蛋白质对信号的影响很大, 并且还会受到核酸制备过程中污染物的干扰, 无法区分DNA和RNA, 而且这种方法不灵敏(5 µg/mL dsDNA溶液 $A_{260}=0.1$)。PicoGreen定量检测方法简单、方便, 成为生物制品残留DNA检测的标准。

PicoGreen 只有与 dsDNA 结合后才发出荧光, 并且所发荧光强度与 DNA 浓度成正比。PicoGreen 可以检测出 25 pg/mL-1000 ng/mL 范围内的 dsDNA, 且线性关系较好($R^2>0.99$)。

使用方法

试剂制备

PicoGreen dsDNA定量试剂是以1 mL的浓缩液形式保存在无水的DMSO(二甲基亚砷)中。实验时, 配制2×PicoGreen工作液: 将浓缩液用1×TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 7.5) 按1:200的比例稀释。对于终体积为200 µL的检测体系, 如需准备足够20个样品测定的工作液, 可在2 mL 1×TE

中加入10 µL PicoGreen; 对于终体积为2 mL的检测体系, 如需准备足够20个样品测定的工作液, 则需要在20 mL 1×TE中加入100 µL PicoGreen浓缩液。由于试剂容易吸附到玻璃表面, 要在塑料容器中配制。PicoGreen见光易降解, 因此要注意避光保存。

溶液最好在配制好数小时内使用, 以保证最佳结果。

实验方法

1. 标准品工作液的配制:

Sigma小牛胸腺DNA干粉1 mg, 加入1 mL双蒸水, 配制1 mg/mL的标准液。

2. 染料工作液的配置:

5 µL PicoGreen加入1 mL TE (注意: 用1×TE将PicoGreen稀释200倍, 现用现配, 注意避光)。

3. 标准液稀释:

(1) 母液稀释: 取10 µL (1 mg/mL) 标准液加入到990 µL TE溶液中, 稀释成10 µg/mL, 取10 µL (10 µg/mL) 标准液加入到990 µL TE 溶液中, 稀释成100 ng/mL。

(2) 倍比稀释: 取800 µL (100 ng/mL) 的标准液加入到200 µL TE溶液中, 浓度为80 ng/mL, 取500 µL (80 ng/mL) 的标准液加入到500 µL TE溶液中, 稀释到40 ng/mL; 依次倍比稀释, 配成20 ng/mL、10 ng/mL、5.0 ng/mL、2.5 ng/mL。

4. 标准曲线的制备: 倍比稀释后的各梯度标准品溶液和染料工作液各取100 µL混匀, 避光室温放置5 min。使用FB-15型便携式荧光仪检测样品的荧光值: 将混合后的溶液加入微量比色皿, 注意不要在样品中引入气泡, 轻弹微量检测皿的外部, 可以驱散气泡。以1×TE缓冲液为空白对照, 测定样品和空白对照的荧光值; 或者直接用96孔板进行荧光检测, 激发波长480 nm, 发射波长520 nm, 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。

5. 测量待测样品的荧光值。根据制作的DNA浓度的标准曲线，计算待测样品浓度。

光淬灭。

2. PicoGreen工作液最好现配现用，以保证最佳结果。

3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

注意事项

1. 荧光染料均存在淬灭问题，请尽量注意避光，以减缓荧