

# 产品说明书

## PicoGreen™ 核酸荧光染料

产品货号: P2023

产品规格: 1 mL

## 储存条件

4°C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( $R^2>0.99$ )。

对于终体积为 200 μL 的检测体系, 0.1 mL 规格可检测 200 个样本, 1 mL 规格可检测 2000 个样本。

## 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1.99 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19.9 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 (Tris, NaCl等浓度已成标准体系), 加入1 mL双蒸水, 配制成1 mg/mL的标准液。

#### 2. 染料工作液的配置:



5  $\mu\text{L}$  PicoGreen加入0.995 mL TE（注意：用1 $\times$ 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  $\mu\text{L}$ （1 mg/mL）标准液加入到990  $\mu\text{L}$  TE溶液中，稀释成10  $\mu\text{g/mL}$ ，取10  $\mu\text{L}$ （10  $\mu\text{g/mL}$ ）标准液加入到990  $\mu\text{L}$  TE 溶液中，稀释成100 ng/mL。

（2）倍比稀释：取800  $\mu\text{L}$ （100 ng/mL）的标准液加入到200  $\mu\text{L}$  TE溶液中，浓度为80 ng/mL，取500  $\mu\text{L}$ （80 ng/mL）的标准液加入到500  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$ 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 $\times$ 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。

## 注意事项

1. 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
2. 荧光染料均存在淬灭问题，请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。
3. PicoGreen工作液最好现配现用，以保证最佳结果。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

