



PicoGreen dsDNA Assay Kit 双链 DNA (dsDNA) 定量试剂盒

产品简介

Picogreen 是一种极为灵敏的荧光核酸染料, (激发和发射波长 Ex/Em:488/520nm)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。

本试剂盒含有实验所需的所有试剂, 使用更快捷方便。若按照 2ml 反应体系来计算 (比色皿), 10×100 μL kit 可做 100 次反应; 若按照 200μl 反应体系来计算 (96 孔板), 10×100 μL kit 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

编号 名称	组分名称	10~100T	50~500T	100~1000T	Storage
FSF0034-A	Picogreen dsDNA reagent (200× in DMSO)	100μl×1	100μl×5	100μl×10	2-8℃
FSF0034-B	Lambda DNA standard (10μg/ml)	250ul	1ml	1ml×2	2-8℃
FSF0034-C	1×TE Buffer	20ml	100ml	100ml×2	2-8℃
使用说明书	1 份				

保存与运输方法: 2-8℃避光保存, 1 年有效。组分 FSF0034-A 和 FSF0034-B 长期不用亦可置于-20℃保存; FSF0034-C 长期不用亦可置于-20℃保存; 冰袋运输。

使用方法

一、PicoGreen (2×)工作液配制

使用前将 PicoGreen dsDNA reagent 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 19.8mL1×TE 中加入 200μL PicoGreen dsDNA reagent (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 Lambda DNA standard (10μg/ml)进行 50 倍稀释。比如，向 10μl Lambda 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 (R2>0.99)，因此，在此范围内设置浓度梯度，建议标准曲线较好。

①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 Lambda 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 (μl)	Lambda DNA standard (μl)	PicoGreen (2×) (μl)	Lambda 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=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 Lambda 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 100μl 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 (μl)	Lambda DNA standard (μl)	PicoGreen (2×) (μl)	Lambda 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=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。

应用示例（荧光定量）：

附表 PicoGreen 定量耐受的污染物列表

物质名称	最大耐受浓度	信号变化百分比
Salts		
Ammonium acetate	50 mM	3% decrease
Sodium acetate	30 mM	3% increase
Sodium chloride	200 mM	30% decrease
Zinc chloride	5 mM	8% decrease
Magnesium chloride	50 mM	33% decrease
Urea	2 M	9% increase
Organic Solvents		
Phenol	0.1%	13% increase
Ethanol	10%	12% increase
Chloroform	2%	14% increase
Detergents		
Sodium dodecyl sulfate	0.01%	1% decrease
Triton X-100	0.1%	7% increase
Proteins		
Bovine serum albumin	2%	16% decrease
IgG	0.1%	19% increase
Other Compounds		
Polyethylene glycol	2%	8% increase
Agarose	0.1%	4% increase

注意事项

1) Picogreen 含 DMSO (已知有毒试剂)，操作时请注意防护。

2) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。