产 品 说 明 书

产品名称：PicoGreen

产品货号：BN12023

产品规格：1 mL

储存条件

4℃ 避光保存。

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260nm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25pg/mL - 1000ng/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（二甲基亚砜）中。实验时，配制操作溶液：2× PicoGreen试剂，将浓缩液用1×TE（10 mM Tris-HCl，1 mM EDTA，pH7.5）按1:200的比例稀释。对于终体积为200 µL 的检测体系，如果要准备足够的操作溶液测定20 个样品，可在2 mL 1× TE中加入10 µL PicoGreen dsDNA 定量试剂；对应终体积为2 mL 的检测体系，检测20 个样品，则需要在20 mL 1× TE 中加入100 µL PicoGreen dsDNA 定量试剂。由于试剂容易吸附到玻璃表面，要在塑料容器中配制。PicoGreen 试剂见光易降解，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 小牛胸腺嘧啶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 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990µL 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。

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。