

PicoGreen dsDNA 定量试剂

货号/规格: P6021 / 1 mL

产品简介

PicoGreen 是一种高灵敏度的荧光检测试剂, 专门用于双链 DNA (dsDNA) 的定量分析。它以其出色的灵敏度、专一性和便捷性, 在分子生物学研究和生物制品检测中被广泛应用。PicoGreen 仅在与 dsDNA 结合后发出荧光, 且荧光强度与 DNA 浓度成正比, 使得它成为定量 dsDNA 的理想选择。

产品组成

Component	P6021
PicoGreen dsDNA 定量试剂	1 mL

保存条件

4°C 避光保存。

产品参数

激发/发射波长: Ex/Em = 480/520 nm (结合 dsDNA)

应用范围

PCR 扩增产物的定量、基因组 DNA 定量、复杂混合物中的 dsDNA 测定、病毒 DNA 定量等。

产品特点

高灵敏度: 可检测低至 25 pg/mL 至 1000 ng/mL 范围内的 dsDNA, 线性关系良好($R^2 > 0.99$)。

操作简便: 定量检测方法简单快捷, 易于实验室操作。

抗干扰能力强: 基本不受单链 DNA (ssDNA) 和 RNA 的影响, 可耐受一定浓度的盐、尿素、乙醇、氯仿、去垢剂、蛋白等干扰。

宽线性范围: 荧光响应线性范围广, 可覆盖多个数量级。

应用举例

1. 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 2X PicoGreen 工作液: 将浓缩液用 1X 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 μ L 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 1X TE 中加入 10 μ L 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 19.9 mL 1X TE 中加入 100 μ L 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。

2. 实验方法

2.1 标准品工作液的配制

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。

2.2 染料工作液的配制

5 μ L PicoGreen 加入 0.995 mL TE (注意: 用 1X TE 将 PicoGreen 稀释 200 倍, 现用现配, 注意避光)。

2.3 标准液稀释

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

(2) 倍比稀释: 取 800 μ L (100 ng/mL) 的标准液加入到 200 μ L TE 溶液中, 浓度为 80 ng/mL, 取 500 μ L (80 ng/mL) 的标准液加入到 500 μ 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。

2.4 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 μ L 混匀, 避光室温放置 5 min。使用荧光计检测样品的荧光值: 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 1X 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。

2.5 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。

本品仅供科学研究使用。