

## Product Manual

## 产品说明书

### 产品货号

PR01057

### 产品介绍

PikoGreen 核酸荧光染料 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中 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, 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  $\mu\text{g}/\text{mL}$  dsDNA 溶液  $A_{260} = 0.1$ )。PikoGreen 核酸荧光染料 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。PikoGreen 核酸荧光染料可以检测出 25  $\text{pg}/\text{mL}$ ~1000  $\text{ng}/\text{mL}$  范围内的 dsDNA, 且线性关系较好 ( $R^2 > 0.99$ )。对于总体积为 200  $\mu\text{L}$  的检测体系, 1 mL 规格可检测 2000 个样本。

### 应用范围

dsDNA 定量、NGS 二代测序、文库构建

### 储运条件

4  $^{\circ}\text{C}$  避光保存, 有效期见外包装; 长期保存可以储存在 -20  $^{\circ}\text{C}$ 。冰袋运输。

### 产品特点

**特异性好:** 特异性结合 dsDNA 对常规污染物有耐受性;

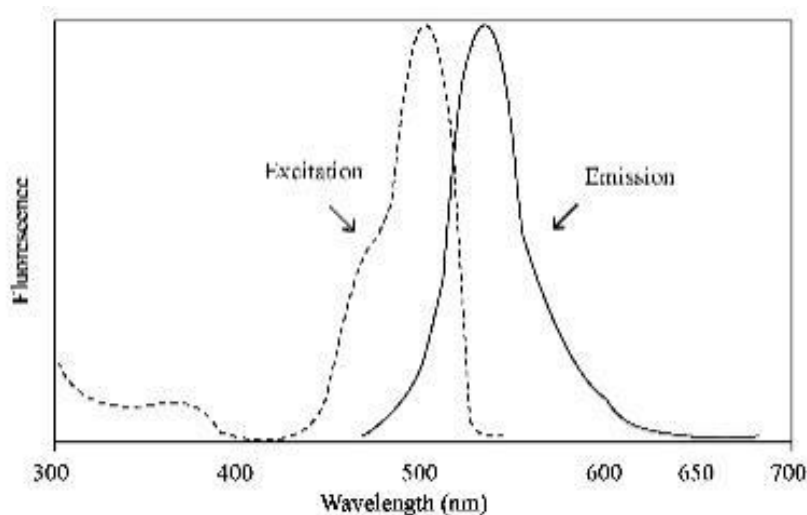
**简便省时:** PikoGreen 核酸荧光染料 定量检测方法简单、方便, 成为生物制品残留 DNA 检测的标准。

**灵敏度高、检测范围广:** 可以检测出 25  $\text{pg}/\text{mL}$ ~1000  $\text{ng}/\text{mL}$  范围内的 dsDNA, 且线性关系较好 ( $R^2 > 0.99$ )。

### 产品参数

Ex/Em: 480/520 nm (结合 dsDNA)

### 光谱图:



## 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.PikoGreen 核酸荧光染料 工作液最好现配现用，以保证最佳结果。
- 4.本产品仅限于科研，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 5.为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 自备材料

- 1.耗材  
0.5 mL 离心管
- 2.仪器  
Qubit 3.0/Qubit 4.0

## 操作步骤

### 1.试剂制备

PicoGreen dsDNA 定量试剂是 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  $2 \times$  PikoGreen 核酸荧光染料工作液：将浓缩液用  $1 \times$  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  $\mu$ 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  $1 \times$  TE 中加入 10  $\mu$ L PikoGreen 核酸荧光染料，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  $1 \times$  TE 中加入 100  $\mu$ L PikoGreen 核酸荧光染料 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。

### 2.实验方法

#### (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) 染料工作液的配置：

5  $\mu$ L PikoGreen 核酸荧光染料 加入 0.995 mL TE。

**注：用  $1 \times$  TE 将 PikoGreen 核酸荧光染料 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  $\mu$ L (1 mg/mL) 标准液加入到 990  $\mu$ L TE 溶液中，稀释成 10  $\mu$ g/mL，取 10  $\mu$ L (10  $\mu$ g/mL) 标准液加入到 990  $\mu$ L TE 溶液中，稀释成 100 ng/mL。

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

3)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  $\mu$ 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。

4)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。