PicoGreen

货号：D0039-1ml
存储条件：4℃避光保存，有效期见外包装。长期保存可以储存在-20ºC。

产品参数: Ex/Em: 480/520 nm（结合 dsDNA）

产品介绍

该试剂盒可用于 Qubit 仪器。利用 picogreen 对 DNA 含量检测的方法是在 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，而且灵敏度低（5 μg/mL dsDNA 溶液 A260=0.1）。Lab-Green II 双链 DNA 定量试剂盒检测方法简单方便。Picogreen 只有与 dsDNA 结合后才发出荧光，并且荧光强度与 DNA 浓度成正比。Picogreen 可以检测出 10 pg/μL-100 ng/μL 范围内的 dsDNA ，且线性关系较好(R2>0.99)。

实验步骤

1. 试剂制备

Picogreen 染料是以 1mL 的浓缩液形式保存在无水的 DMSO（二甲基亚砜）中。实验当天，配制 2xLab-Green II 试剂的操作溶液，用 1xTE 按 1:200 的比例稀释浓缩液（10mM Tris-HCl，1mM EDTA，pH7.5）。如果要准备足够的操作溶液测定 20 个样品，可在 20mL 1x TE 中加入 100μL Lab-Green II 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，所以应将配好的溶液用箔包住或放置暗处避光保存。
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**:

1). 标准品工作液的配制:

Sigma 小牛胸腺嘧啶 DNA 干粉（货号：D4522-1MG）1mg（Tris，Nacl 等浓度已成标准体系），加入 1mL 双蒸水，配制成 1mg/mL 的标准品工作液;

2). 染料工作液的配置:

6 uL Lab-Green II 加入 1mL TE(注意：用 1×TE 将 Lab-Green II 稀释 200 倍，现用现配，注意避光)。

3). 标准品工作液稀释:

（1）母液稀释：取 10ul（1mg/mL）标准品工作液加入到 990ul TE 溶液中，浓度稀释成 10ug/mL，取 10ul（10ug/mL）标准品工作液加入到 990ul TE 溶液中，浓度稀释成 100ng/mL;

（2）倍比稀释：取 800ul （100ng/mL）的标准品工作液加入到 200ul TE 溶液中，浓度达到 80ng/mL（药典规定：荧光染色方法 DNA 含量在 1.25-80 ng/mL 范围线性较好， 该法 DNA 检出限为 0.3 ng/ml），取 500ul（80ng/mL）的标准品工作液加入到 500ul TE 溶液中,浓度稀释到 40ng/mL;依次倍比稀释,配成 20ng/ml、10ng/ml、5.0ng/ml、2.5ng/ml、1.25ng/ml、0.625ng/ml 的标准品溶液;

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 100ul 混匀，避光室温放置 5min。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，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。以 1×TE 缓冲液为 blank，测定样品和空白对照的荧光值；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。

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. 1× Lab-Green II 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。