



PikoGreen dsDNA quantitation reagent (优于 PicoGreen)

产品描述

PikoGreen 是一种极为灵敏的双链 DNA 荧光染料, 仅与 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 和单体核苷酸条件下, 可以选择性地检测低至 25 pg/mL 的 dsDNA。与传统 DNA 定量方法相比, 具有灵敏度高, 特异性强, 耐受性好, 线性范围宽及方便操作等优点, 适用于 cDNA 文库构建、DNA 亚克隆、PCR 产物等领域的 DNA 浓度的精确测定。

相比传统的方法, PikoGreen dsDNA Quantitation Reagent 定量具有以下优势:

- (1) **灵敏:** 数量级较 UV 吸光读数更敏感, 可节省样品。
- (2) **特异性强:** 只结合 dsDNA, 特异性强, 不受样品常规污染影响。传统紫外吸光法容易受样品中存在的单链 DNA, 蛋白, RNA 等影响。
- (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) **线性范围宽:** PikoGreen dsDNA 染料测定 DNA 浓度, 在 100pg/ml-100ng/ml 范围内呈良好线性; 荧光计兼容。
- (5) **容易使用:** 在样品中加入染料, 等待 5~6 min 染色, 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可适用于各种 DNA 样品分析、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。

该分析在四个数量级范围内呈线性, 且几乎无序列依赖性, 可以精确测量多个来源的 DNA, 包括基因组 DNA、病毒 DNA、小量提取 DNA 或 PCR 扩增产物。该方法因其稳定性、灵敏性, 已经录入《中国药典》。

订购信息

产品名称	货号	规格
PikoGreen dsDNA quantitation reagent (优于PicoGreen)	AN54L029	1 mL

运输与保存

蓝冰运输。-20°C避光保存, 有效期 24 个月。

使用方法

1. PikoGreen 工作液的配制

使用前将 PikoGreen dsDNA 定量试剂回温至室温; PikoGreen 以 100 μ L 200 \times 的浓缩液形式保存于无水 DMSO 中的 (共 10 管)。实验当天, 根据实验需求用 1 \times TE 按 1:200 的比例稀释适量定量试剂浓缩液。例如要准备足够的操作溶液以 2 mL 检测体系测定 20 个样品, 可向 19.9 mL 1 \times TE 中加入 100 μ L PikoGreen dsDNA 定量试剂。工作液见光易降解, 尽量在配好后几小时内使用。

2. 配制标准品 DNA 溶液

- (1) 用 1 \times TE 溶液溶解 dsDNA 制备 1 μ g/mL dsDNA。根据在 1 cm 光程长度的比色杯中 A260 nm 时的吸光度确定 DNA 浓度; 相应于 1 μ g/mL dsDNA 溶液 A260=0.02。标准液常用小牛胸腺 DNA 制备, PikoGreen 试剂测定法在通常污染核酸试剂的几种复合物存在的条件下仍能保持线性良好, 但是, 为了得到有效的对照处理, 被用来做标准曲线的 dsDNA 溶液要用和实验样品相同的方式来处理, 并且应该包含相同的可能存在的污染物。



- (2) 制备从 0.5 ng/mL 到 500ng/mL (见表 1) 单重复 8 个点的标准曲线。配制一系列的标准 DNA 溶液, 然后与等体积的 PikoGreen 工作液混和, 放入 1 x 1cm 比色杯中。混合相同体积的 1 x TE 和 PikoGreen 操作溶液作为空白对照, 避光于室温下放置 2~5 min。

表 1: 用 1 x 1cm 比色杯时 DNA 标准浓度配制参考

标准 DNA 溶液浓度(ng/mL)	标准 DNA 溶液体积(mL)	PikoGreen 工作液体积(mL)	标准 DNA 终浓度(ng/mL)
1000	1	1	500
200	1	1	100
50	1	1	25
20	1	1	10
5	1	1	2.5
2	1	1	1
1	1	1	0.5
0	1	1	空白

- (3) 当用微量检测皿适配器时, PikoGreen 测定也可在较低的测定体积 (50 μ L 到 200 μ L) 内完成。产生从 1 ng/mL 到 100 ng/mL (见表 2) 的标准曲线, 配制一系列的标准 DNA 溶液, 然后与等体积的 PikoGreen 工作液混和, 将至少 50 μ L 溶液转移到微量检测皿中。确信不要在样品中引入气泡, 轻轻地弹微量检测皿的外部经常可以驱散气泡。避光于室温下放置 2-5 min。

表 2: 用微量检测皿 DNA 标准浓度配制参考

标准 DNA 溶液浓度(ng/mL)	标准 DNA 溶液体积(mL)	PikoGreen 工作液体积(mL)	标准 DNA 终浓度(ng/mL)
200	30	30	100
50	30	30	25
20	30	30	10
5	30	30	2.5
2	30	30	1
0	30	30	空白

- (4) 孵育后用合适的荧光计测量样品荧光值。Ex/Em=480 nm/520 nm, 为了减少光漂白, 应保持所有样品的检测时间一致。用荧光值最大的样品校正仪器。
- (5) 用检测数据与 DNA 标准溶液浓度做回归分析, 制作标准曲线。

3. 样品分析

- (1) 用 1 x TE 稀释待测 DNA 样品至需要的体积(1x1 cm 比色杯需 1.0 mL, 微量检测皿需 25~100 μ L)。对样品高度稀释可以确保任何污染物都被最大限度地冲淡, 也要避免取样体积太小而无法精确吸取的情况。
- (2) 在每个样品中加入等体积 PikoGreen 工作液, 混合好, 将混合物移入合适的比色杯, 避光于室温下放置 2~5 min。
- (3) 检测、读取荧光值, 换算样品中 dsDNA 浓度。可以对样品进行不同的稀释处理重复测定以确保结果的准确性。

注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用, 不得用于临床诊断、治疗等领域。
2. PikoGreen 定量试剂含有 DMSO, PikoGreen 是结合 dsDNA, 操作时采取适当防护, 戴手套小心操作。
3. 尽管常见污染物不会影响 PikoGreen 检测 dsDNA 浓度 (见表 3), 但是当样品中 dsDNA 浓度太低, RNA,



ssDNA 浓度超过 dsDNA 10 倍以上时, RNA, ssDNA 等污染还是会对检测结果产生较大干扰, 在此种情况下, RNA 酶可以消除 RNA 干扰, RNA 酶 A、酶 T1、核酸酶 S1 结合能除去 ssDNA 干扰, 从而保证样品荧光值是由 dsDNA 产生。

表 3: Pikogreen 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

相关产品推荐

2 x qPCR Mix (Green) (货号: AN19L918)

EZ ECL 化学发光液 (增强型) (货号: AP34L014)