



PikoGreen dsDNA 定量试剂盒 (超敏)

产品描述

PikoGreen dsDNA 定量试剂盒 (PikoGreen HighSensitivity dsDNA Quantitation Kit) 不同于常规的基于吸光度的测量, 这款试剂盒可以区分 dsDNA、ssDNA 或 RNA, 有选择性地检测 dsDNA (见图 1)。主要包含 PikoGreen High Sensitivity dsDNA Quantitation Buffer, Enhancer solution 以及 pre-diluted dsDNA Standards 三个组分, 可以在 200 μ L 体系内定量 0.2~100 ng 的 dsDNA (见图 2)。

与传统 DNA 定量方法相比, 本试剂盒具有检测范围广、高灵敏度、高特异性等优点。能将其他污染物的影响降低至最低, 可以耐受常规污染物例如蛋白质, 盐, 有机溶剂和洗涤剂等 (见表 1), 本试剂盒不具有细胞膜通透性, 没有细胞毒性和诱发突变性, 对人体安全无害。

订购信息

产品名称	货号	规格
PikoGreen dsDNA 定量试剂盒 (超敏)	AN54L038	200 assays
PikoGreen dsDNA 定量试剂盒 (超敏)	AN54L039	1000 assays

产品组分

组分	AN54L038	AN54L039
A: PikoGreen High Sensitivity dsDNA Quantitation Solution	50 mL	250 mL
B: PikoGreen High Sensitivity dsDNA Enhancer, 100 \times	0.5 mL	2.5 mL
C: dsDNA Standards 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 and 10 ng/ μ L dsDNA from calf thymus	每组 0.1 mL (8组)	每组 0.5 mL (8组)

运输与保存

蓝冰运输。4 $^{\circ}$ C 避光保存, 有效期 24 个月。

使用方法

- 使用前, 将产品从储存条件下取出恢复至室温。如果 100X Enhancer 储存液出现沉淀, 可 37 $^{\circ}$ C 水浴溶解。每个组分应充分震荡或涡旋混匀、离心, 以免造成不必要的试剂损耗。
- 每个待测样品对应 200 μ L 的 PikoGreen 工作液。对于一个 96 孔板, 吸取 200 μ L 100X Enhancer, 加入到 20 mL Quantitation Solution 中, 涡旋混匀, 配置成 PikoGreen 工作液, 为得到最佳结果, 工作液应在 1 h 内使用完毕。如果将工作液重新储存并在 24 h 内使用, 结果的准确性会有轻微损失。储存过程中, 增强液可能会出现沉淀现象, 可以通过涡旋震荡使其重悬。
- 对于每个样品, 吸取 200 μ L 的工作液至黑色的 96 孔板微孔中。为确保结果精确可靠, 建议每个测试样品和 DNA 标样分别做平行的 3 个复孔, 此过程也可以使用有精确量程的移液排枪进行。黑色的检测板可以减少各测试样品间的荧光干扰。
- 在 96 孔板微孔中, 每孔加入 10 μ L 的 dsDNA 标样或未知样品, 并用移液器轻轻混匀。
- 将微孔板室温避光孵育 5~10 min, 为得到最佳结果, 孵育结束后, 应立即读取检测板。也可以在 6 h 内读取数据, 但结果的精确性会有轻微损失。
- 使用激发波长和发射波长在 485 nm 和 530 nm 处的酶标仪测量荧光值。
- 制作一条标准曲线, 计算检测样品的 DNA 浓度 (见图 2)。

【注】: 图 2 标准曲线仅供参考, 您可以根据实际测得的数据自制标准曲线, 从而求算样品的浓度。

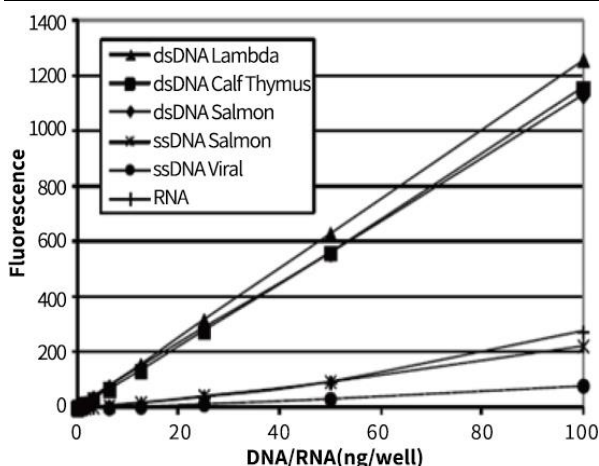


图 1: 使用 PikoGreen High Sensitivity dsDNA 定量试剂盒检测不同类型核酸得到的相对荧光强度

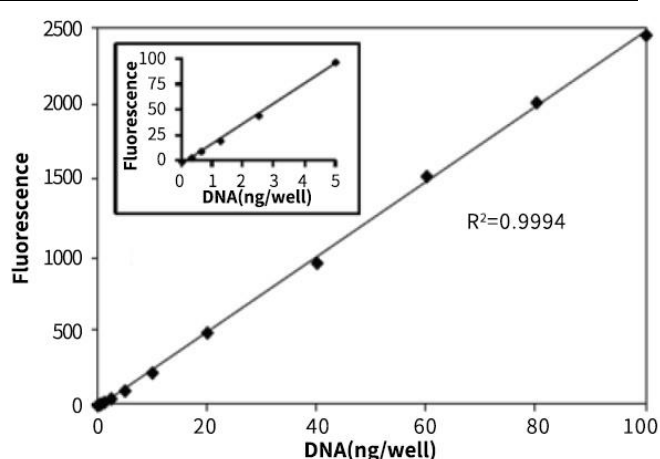


图 2: 使用 PikoGreen Hig Sensitivity dsDNA 定量试剂盒制作的 calf thymus DNA 标准曲线 (Ex/Em 485/530), 左上角插图显示了低浓度 DNA 样本测定的曲线图。

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. 对于要检测的植物或动物来源的 DNA 样本, 小牛胸腺 DNA (Calf thymus DNA) 常常作为制作 DNA 标样的参照物。因为 Calf thymus DNA 具有双链结构、高度聚合, 碱基分配均匀 (AT 含量 58%, GC42%)。如果检测样品的荧光值超过了标准曲线, 那么需要将样品做进一步稀释处理。为了保持结果的一致性, 务必使每孔上样量均等, 且不含有其他高浓度的污染物。
3. PikoGreen High Sensitivity dsDNA 定量试剂盒可以测量范围在 0.2~100 ng 的 dsDNA。对于一些不需要线性检测的样品, 试剂盒检测范围可以扩展至 200 ng。如需检测更低含量的样品, 您可以将 DNA 标样用 1× TE 缓冲液作进一步的稀释, 浓度可以稀释到 0.02 ng/μL, 然后按照常规程序每孔 10 μL 上样。
4. 对于不同种类的检测仪器, 您可以优化仪器设置, 以获取最佳线性度。一些可能会影响最终线性度和相对荧光强度的因素有: (1) 激发和发射波长与带宽 (2) 截止型滤波器 (3) 灵敏度设置 (4) 移液的准确性 (5) 微孔板制造商。为了得到最佳结果, 请使用精确校准的移液器和去 RNA 酶的枪头、试管以及检测板。建议检测时每个 DNA 标样和未知样品都设定 3 个复孔。如果检测时不只一块 96 孔板, 建议每块 96 孔板都设定一条标准曲线, 尽量减少检测板之间的误差。

表 1: 常见的 DNA 污染物对 PikoGreen High Sensitivity dsDNA 定量试剂盒的影响

复合物	初始浓度	终浓度 (200 μL)	结果
醋酸铵	100 mM	5 mM	Pass
醋酸钠	600 mM	30 mM	Pass
氯化钠	200 mM	10 mM	Pass
氯化镁	25 mM	1.25 mM	Pass
苯酚	2 %	0.1 %	Pass
乙醇	10 %	0.5 %	Pass
氯仿	2 %	0.1 %	Pass
十二烷基硫酸钠 (SDS)	0.2 %	0.01 %	Pass
Triton X-100	0.2 %	0.01 %	Pass
牛血清白蛋白(BSA)	200 mg/mL	10 mg/mL	Pass*
dNTPs**	2 mM	100 μM	Pass
聚乙二醇	40 %	2 %	Pass
琼脂糖	2 %	0.1 %	Pass

注: 3 份 dsDNA 平行样品的标准曲线, 分别在上述含有指定浓度污染物的条件下, 初始浓度进行检测, “Pass” 指与没有污染物的体系相比较, 实验结果变化范围<20%。所有样品用 Molecular Devices Gemini XS 酶标仪在 485 nm 处激发, 在 530 nm 处测荧光强度。“Pass **” 指由此条件测得的标准曲线有少许变动。“dNTPs**” 指 dATP, dCTP, dGTP, dTTP 的混合物。