

## PicoGreen

REF: CP21101S

### 储运条件

4°C保存，避光

### 产品组成

组分	规格
PicoGreen	1 ml

### 产品简介

PicoGreen 是一种特异性结合双链 DNA (dsDNA) 的饱和荧光染料，激发波长为 480 nm，发射波长为 520 nm，与大多数荧光计和荧光酶标仪兼容。PicoGreen 仅与 dsDNA 结合后才发出荧光，不受核苷酸和单链核酸的影响，产生的荧光强度与 dsDNA 浓度成正比，且无序列依赖性，非常适用于 dsDNA 的定量检测，可检出 25 pg/ml~1 µg/ml 浓度范围内的 dsDNA。

由于 PicoGreen 灵敏度高、特异性强、耐受性好、无需纯化 DNA，从 2010 版中国药典开始，已被列为生物制品 DNA 残留检测的标准方法之一。根据药典说明，当 dsDNA 浓度在 1.25 ng/ml~80 ng/ml 范围内时线性最好 ( $R^2 > 0.99$ )。

### 使用方法

#### 1. 染料工作液配制

PicoGreen 原液以浓缩液形式保存在无水的 DMSO (二甲基亚砜) 中。实验时，一般应将原液用 1× TE 按 1:100 的比例稀释，配制成 2× 染料工作液，然后按 1:1 比例与待测样品混合，使 PicoGreen 终浓度为 1×。由于本试剂容易吸附到玻璃表面，应在塑料容器中配制，并注意尽量避光。染料工作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 标准液配制：

取 Sigma 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 染料工作液配制：

取 10 µl PicoGreen 原液，加入 990 µl 1× TE 缓冲液，配制成 2× 染料工作液。

##### ③ 标准品工作液配制：

a. 母液稀释：取 10 µl (1 mg/ml) 标准液加入到 990 µl 1× TE 缓冲液中，稀释成 10 µg/ml 标准品工作液；再取 10 µl (10 µg/ml) 标准品工作液加入到 990 µl 1× TE 缓冲液中，稀释成 100 ng/ml 的标准品工作液。

b. 倍比稀释：取 800 µl (100 ng/ml) 的标准品工作液加入到 200 µl 1× TE 缓冲液中，浓度为 80 ng/ml；再取 500 µl (80 ng/ml) 标准品工作液加入到 500 µl 1× TE 缓冲液中，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、1.25 ng/ml 的标准品工作液。

##### ④ 标准曲线绘制：

分别将倍比稀释后的 1.25 ng/ml~80 ng/ml 标准品工作液和 2× 染料工作液按 1:1 体积混匀 (具体体积根据荧光设备和容器的要求确定)，避光、室温放置 5 min。使用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，轻弹比色皿外部以驱散气泡。以 1× TE 缓冲液为空白对照，设定激发波长 480 nm，发射波长 520 nm，在恒定温度下测定样品和空白对照的荧光值。或者使用 96 孔酶标板在荧光酶标仪中检测。检测结束后，以各浓度荧光值减去空白对照荧光值，再与标准品溶液浓度 (ng/ml) 进行线性回归，绘制标准曲线。

##### ⑤ 待测样品浓度测定：

将待测样品溶液和 2× 染料工作液按 1:1 体积混匀，采用④中同样的方法，在相同温度下测定待测样品的荧光强度 (必要时先使用 TE 缓冲液将待测样品稀释到 PicoGreen 线性范围之内)，根据标准曲线的线性回归方程，计算待测样品浓度。

### 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. PicoGreen 工作液最好现配现用，以保证最佳结果；
3. PicoGreen 荧光强度受温度影响较大，应保证绘制标准曲线和样品测定在同一恒定温度下进行；
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。