

## Ready-to-use PicoGreena™ 核酸荧光染料

### 1 产品基本信息

产品名称（中文）：Ready-to-use PicoGreena™ 核酸荧光染料

产品名称（英文）：Ready-to-use PicoGreena™ dsDNA Assay Reagent

产品编号：MF1805

### 2 规格或纯度

1 mL

### 3 产品介绍

产品简介：

PicoGreena™ 是用于荧光检测 dsDNA 并进行定量的产品，检测灵敏度高，常用于分子生物学技术中 cDNA 文库的构建、亚克隆的 DNA 片段纯化及相关应用（如 DNA 定量、产物扩增和引物进一步检测）。常规 DNA 含量检测方法（260 nm 处测吸光值）存在明显缺陷，如核苷酸、单链核酸和蛋白质对信号干扰大、无法区分 DNA 与 RNA、灵敏度低（5 µg/mL dsDNA 溶液 A<sub>260</sub>=0.1）；而 PicoGreena™ 仅与 dsDNA 结合后发出荧光，且荧光强度与 DNA 浓度成正比，可检测 25 pg/mL~1000ng/mL 范围内的 dsDNA，线性关系良好（R<sup>2</sup>>0.99），对于总体积为 200 µL 的检测体系，1 mL 规格可检测 2000 个样本。

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：定量检测方法简单、方便，是生物制品残留 DNA 检测的标准方法；
- 灵敏度高、检测范围广：可检测 25 pg/mL~1000 ng/mL 范围内的 dsDNA，线性关系良好（R<sup>2</sup>>0.99）；
- 光谱特性优：结合 dsDNA 后激发波长（Ex）为 480 nm，发射波长（Em）为 520nm。

适用范围：

- dsDNA 定量
- NGS 二代测序
- 文库构建

### 4 储存与运输

储存条件：4℃避光保存

运输条件：冰袋运输

### 5 使用方法（仅供参考）

PicoGreena™ 的使用需先制备试剂与标准品，再通过荧光检测与标准曲线计算待测样品浓度，具体步骤如下：

#### 5.1 试剂制备

PicoGreena™ dsDNA 定量试剂为 1mL 浓缩液（保存于无水 DMSO 中），实验时需配制 2×PicoGreena™ 工作液：将浓缩液用 1×TE 缓冲液（10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH7.5）按 1:200 比例稀释。

- (1) 若检测体系终体积为 200 µL，需准备足够 20 个样品的工作液：在 1.99 mL 1×TE 中加入 10µL PicoGreena™ 浓缩液；
- (2) 若检测体系终体积为 2 mL，需准备足够 20 个样品的工作液：在 19.9 mL 1×TE 中加入 100µL PicoGreena™ 浓缩液。

注：由于试剂易吸附到玻璃表面，需在塑料容器中配制工作液；PicoGreena™ 工作液最好现配现用，且全程注意避光。

#### 5.2 标准品制备

- (1) 标准液配制：取 Sigma 小牛胸腺 DNA 干粉 1mg (Tris、NaCl 等浓度已成标准体系)，加入 1mL 双蒸水，配制成 1mg/mL 的标准液；
- (2) 母液稀释：取 10  $\mu$ L (1 mg/mL) 标准液加入到 990  $\mu$ L 1 $\times$ TE 溶液中，稀释成 10  $\mu$ g/mL；再取 10  $\mu$ L (10  $\mu$ g/mL) 标准液加入到 990  $\mu$ L 1 $\times$ TE 溶液中，稀释成 100 ng/mL；
- (3) 倍比稀释：取 800  $\mu$ L (100 ng/mL) 的标准液加入到 200  $\mu$ L 1 $\times$ 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 1 $\times$ 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 的梯度标准品溶液；

### 5.3 荧光检测与浓度计算

- (1) 标准曲线制备：将倍比稀释后的各梯度标准品溶液和 2 $\times$ PicoGreena™工作液各取 100  $\mu$ L 混匀，避光室温放置 5min；使用 FB-15 型便携式荧光仪检测（将混合液加入微量比色皿，避免引入气泡，可轻弹微量检测皿外部驱散气泡），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；或直接用 96 孔板检测（激发波长 480 nm，发射波长 520 nm），用标准品溶液的浓度 (ng/mL) 对应荧光强度作直线回归，制备标准曲线；
- (2) 待测样品检测：按上述方法测定待测样品的荧光值，根据标准曲线计算待测样品的 dsDNA 浓度。

## 6 常见问题

**Q1：为什么测了 3 次复孔，复孔之间浓度差异都比较大（CV 值超过了 15%）？**

**答：**

可能由以下原因导致，可按顺序排查：

- (1) 产品使用前未恢复到室温，温度波动影响检测结果，需确保使用前将产品平衡至室温；
- (2) 测定浓度时用手掌握住已孵育好的 EP 管，手部温度改变体系温度，应避免直接接触孵育后的 EP 管；
- (3) 样本本身杂质过多，超过染料的耐干扰上限，需对样本进行进一步纯化处理。

## 7 注意事项

- 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验；
- 荧光染料均存在淬灭问题，需尽量避光操作与保存，以减缓荧光淬灭；
- PicoGreen 工作液最好现配现用，以保证最佳检测结果；
- 本产品仅限于科研使用，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；
- 为了您的安全和健康，操作时请穿实验服并戴一次性手套；
- 配制工作液时需使用塑料容器，避免玻璃容器吸附试剂影响浓度准确性。