

PicoGreen 双链 DNA 荧光定量测定试剂盒产品说明书

主要用途

PicoGreen双链DNA荧光定量测定试剂是一种旨在通过使用PicoGreen荧光染料与样品中双链DNA的高度特异性结合而产生荧光信号来精确定量样品中DNA含量的权威而经典的技术方法。该技术经过精心研制、成功实验证明的。其适用于各种原核生物和真核生物的细胞或组织DNA以及环境中DNA含量分析。产品严格无菌，即到即用，性能稳定，高度敏感。

技术背景

作为 DNA 染色剂之一的 PicoGreen 荧光染料特异性地与样品中双链 DNA 结合，产生荧光信号。PicoGreen 技术可以检测到低达 0.5 纳克双链 DNA 的变化。DNA 的微量增加引起荧光信号强度（Intensity）或相对荧光单位（RFU）的显著增加。其自发荧光（Autofluorescence）忽略不计，重复性标准差异（Standard Deviation）低，不受样品化学成分的干扰。

产品内容

染色液（Reagent A）	62.5 微升
稀释液（Reagent B）	15 毫升
标准液（Reagent C）	1 毫升
产品说明书	1 份

保存方式

保存染色液（Reagent A）和标准液（Reagent C）在-20℃冰箱里，其余的保存在 4℃冰箱里，染色液（Reagent A）避免光照，有效保证 6 月

用户自备

1.5 毫升离心管：用于工作液配制的容器
比色皿或 96 孔板：用于荧光分析的容器
荧光分光光度仪或荧光酶标仪：用于荧光定量分析

实验步骤

一、测定准备

1. 准备好待测样品，置于冰槽里
2. 设定好荧光分光光度仪（温度为 37℃）：激发波长 480nm，散发波长 530nm，并置零
3. 实验开始前，将-20℃冰箱里的试剂盒中的**染色液（Reagent A）**置于冰槽里融化。然后移出 5 毫升**稀释液（Reagent B）**到新的 15 毫升离心管，加入 25 微升**染色液（Reagent A）**，混匀后，用锡纸包裹，标记为**染色工作液**，放在暗室里。然后进行下列操作。

二、构建标准曲线

1. 准备好 5 个 1.5 毫升离心管，标记为 1 至 5 号管
2. 分别加入 500 微升**稀释液（Reagent B）**到每个离心管
3. 移取 500 微升**标准液（Reagent C）**到 1 号管，混匀
4. 小心移取 500 微升 1 号管稀释的**标准液（Reagent C）**到 2 号管，混匀
5. 小心移取 500 微升 2 号管稀释的**标准液（Reagent C）**到 3 号管，混匀
6. 小心移取 500 微升 3 号管稀释的**标准液（Reagent C）**到 4 号管，混匀
7. 将 1 至 5 号管放进冰槽里备用；标准管含量见下表

管号	缓冲液（Reagent B）	标准液（Reagent C）	标准 DNA 总量
1	500 微升	500 微升	1 微克
2	500 微升	500 微升 1 号管	0.5 微克
3	500 微升	500 微升 2 号管	0.25 微克
4	500 微升	500 微升 3 号管	0.125 微克
5	500 微升	空对照	0

8. 移取 500 微升含有**染色液（Reagent A）**和**稀释液（Reagent B）**的**染色工作液**到新的比色皿
9. 加入 500 微升上述配制的标准液
10. 室温下，孵育 5 分钟，避免光照
11. 即刻放进荧光分光光度计测读：获得相对荧光单位（Relative Fluorescence Unit; RFU）
12. 重复实验步骤 8 至 11 四次
13. 绘制标准曲线：纵座标（Y 轴）为相对荧光单位（RLU）；横坐标（X 轴）为 DNA 含量（微克）

三、样品检测

1. 移取 500 微升含有**染色液（Reagent A）**和**稀释液（Reagent B）**的**染色工作液**到新的比色皿
2. 加入 500 微升待测样品
3. 室温下，孵育 5 分钟，避免光照
4. 即刻放进荧光分光光度计测读：获得相对荧光单位（Relative Fluorescence Unit; RFU）
5. 根据标准曲线获得样品对应 DNA 含量（微克）
6. 样品实际 DNA 浓度：

[根据标准曲线获得样品对应 DNA 含量（微克）X 样品稀释倍数]0.5（样品容量；毫升）=微克/毫升

注意事项

1. 本产品为 20 次（比色皿）和 100 次（96 孔板）操作，包括标准曲线测定
2. 操作时，须戴手套
3. 使用新鲜配制的**染色工作液**，务必不要超过 2 小时，且注意避光
4. 建议使用塑料管配制**染色工作液**，而不是玻璃制品
5. 孵育时，避免光照
6. 系统检测，标准曲线测定 1 次即可；如果仪器更换，则需要重新测定 1 次

7. 如果荧光读数过高，可以相应稀释样品量
8. 可以使用荧光酶标仪检测，试剂用量和体系均除以 5，包括标准 DNA 含量，其计算公式：

[根据标准曲线获得样品对应 DNA 浓度（微克）X 样品稀释倍数] $\div$ 0.1（样品容量；毫升）=微克/毫升

9. 盐类、尿素、乙醇、氯仿、去垢剂、蛋白、琼脂糖、单链 DNA 和 RNA 不会干扰检测
10. 本公司提供系列 DNA 检测试剂产品

质量标准

1. 本产品经鉴定性能稳定
2. 本产品经鉴定高度敏感