



ZOMANBIO

本产品仅供科研使用. 请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

版本号: 2025-03-06

PicoGreen 荧光染料 (200×)

PicoGreen Fluorescent Dye (200×)

Cat.NO. ZS213

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZC213-1	PicoGreen 荧光染料 (200×)	100μl
<input type="checkbox"/> ZC213-2	PicoGreen 荧光染料 (200×)	1ml

储存条件: 4℃避光保存 2 年。

产品介绍:

PicoGreen 与 DNA 双链结合后才发出荧光, 无 DNA 不发荧光; 所发荧光与 DNA 浓度成正比。常规的 DNA 含量的检测方法是在 260nm (A260) 处测其吸光值, 主要缺点是核苷酸、单链核酸和蛋白质对信号的影响很大, 还会受到核酸制备过程中污染物的干扰, 无法区分 DNA 和 RNA, 且不灵敏 (5μg/mL dsDNA 溶液 A260=0.1)。PicoGreen 定量检测方法简单、方便, 被多家生物制品厂选择, 成为生物制品残留 DNA 检测的标准。

在 2010 年《中国药典》中提出, PicoGreen 定量 DNA 的方法检出限约 0.3ng/ml, DNA 含量在 1.25-80ng/mL 范围时线性较好 (R²>0.99)。

- 1) 该方法可以测定来源于任何表达宿主样品中的双链 DNA。
- 2) 可以直接定量 PCR 扩增产物而无需从反应混合物中纯化 DNA。
- 3) 远远超出传统紫外 A260 的检测方法和 Hoechst33258 的灵敏度。
- 4) 较高浓度的盐、尿素、乙醇、氯仿、去垢剂、蛋白或琼脂糖对测定无影响。
- 5) 在等摩尔浓度 ssDNA 和 RNA 存在的条件下测定 dsDNA, 影响很小。

所需仪器试剂:

1. 微型荧光计; 便携式荧光仪; 1cm 石英比色皿;
2. PicoGreen 荧光染料;
3. 1×TE (10mM Tris 1mM EDTA) pH8.0;
4. 250μg/mL Sigma 小牛胸腺 DNA;

使用方法:

试剂准备

实验当天, 配制 PicoGreen 工作液, 用 1xTE (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH7.5) 按 1:200 的比例稀释。如果要准备足够的操作溶液测定 20 个样品, 可在 20mL 1xTE 中加入 100μL PicoGreen 定量试剂。由于试剂容易吸附到玻璃表面, 要在塑料容器中配制。PicoGreen 见光易降解, 所以应将配好的溶液用铝箔包住或放置暗处避光保存。配制好的溶液最好数小时内使用, 以保证最佳结果。

实验方法:

- 1). 标准品工作液 和 标准品梯度溶液的配制:

A, Sigma 小牛胸腺嘧啶 DNA 干粉 (货号: D4522-1MG) 1mg (Tris, NaCl 等浓度已成标准体系), 加入 1mL 双蒸水, 配制成 1mg/mL 的标准品。取 10μl (1mg/mL) 标准品液加入到 990μl TE 溶液中, 浓度稀释成 10μg/mL, 取 10μl (10μg/mL) 标准品液加入到 990μl TE 中, 浓度稀释成 100ng/mL 的标准品工作液;



B、标准品梯度溶液: 药典规定荧光染色方法 DNA 含量在 1.25-80ng/mL 范围线性较好, 该法 DNA 检出限为 0.3ng/ml, 所以在 0.3-80ng/ml 之间配置标准品梯度液。比如: 取 800 μ l (100ng/mL) 的标准品工作液加入到 200 μ l TE 溶液中, 浓度达到 80ng/mL, 取 500 μ l (80ng/mL) 的标准品工作液加入到 500 μ l TE 溶液中, 浓度稀释到 40ng/mL; 依次倍比稀释, 配成 20ng/ml、10ng/ml、5.0ng/ml、2.5ng/ml、1.25ng/ml、0.625ng/ml 的标准品溶液。

2). 染料工作液的配置:

6 μ L PicoGreen 加入 1.2mL TE(即: 用 1 \times TE 将 PicoGreen 稀释 200 倍, 现用现配, 注意避光)。

3). 标准曲线的制作: 标准品梯度溶液和染料工作液各取 100 μ l 混匀, 避光室温放置 5min。

4). 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, 确信不要在样品中引入气泡, 轻轻地弹微量检测皿的外部, 去除气泡。以 1 \times TE 缓冲液为 blank; 用标准品溶液的浓度 (ng/ml) 对应的荧光强度作直线回归, 制备标准曲线。

5). 样品检测: 样品直接检测或者使用 1 \times TE 缓冲液稀释后检测。与染料工作液 1:1 混合, 避光室温反应 5min。上机检测。通过标准曲线计算 DNA 含量。

待测DNA最终浓度 (ng/ml)	荧光读值
100	6210
50	3195
40	2507
20	1261
10	620.8
5	298
4	258.8
2	152
0.5	43.8
0	0.72

