

PicoGreen dsDNA定量检测试剂盒

产品货号: T11242

产品规格: 1ml

产品介绍:

在分子生物学的试验过程中, PicoGreen dsDNA定量试剂盒是荧光检测双链DNA并进行定量的一种产品, 这种方法非常灵敏。常用于分子生物学技术中的: cDNA文库的构建; 用于亚克隆的DNA片段纯化及应用, 比如进行DNA定量、产物扩增和引物的进一步检测。疫苗是现代疾病预防中常用的控制方式。如今许多疫苗是细胞培养疫苗, 比如重组乙肝疫苗、狂犬病疫苗等大多数疫苗都采用细胞培养的方法生产。其中, 疫苗的纯化是关键问题, 我们需要尽可能的去除宿主细胞DNA和宿主蛋白。假若宿主细胞的DNA和蛋白同疫苗一起注入人体将会产生不可预料的后果。

常规的DNA含量的检测方法是在260nm (A260) 处测其吸光值。这种方法的主要缺点是核苷酸、单链核酸和蛋白质对信号的影响很大, 并且还会受到核酸制备过程中污染物的干扰, 无法区分DNA和RNA, 而且这种方法不灵敏 ($5\mu\text{g/mL}$ dsDNA溶液 $A_{260}=0.1$)。PicoGreen定量检测方法简单、方便, 被多家生物制品厂所选择, 成为生物制品残留DNA检测的标准。PicoGreen与DNA双链结合后才发出的荧光, 无DNA不发荧光; 所发荧光与DNA浓度成正比。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 $1.25\text{-}80\text{ng/mL}$ 范围时线性较好 ($R^2>0.99$)。

优点:

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, 其影响很小。

产品组成:

名称	规格	保存条件
PicoGreen component-A(200 \times in DMSO)	1mL	2-8 $^{\circ}\text{C}$, 避光
PicoGreen component-B(TE buffer)	200mL	2-8 $^{\circ}\text{C}$
PicoGreen component-C(Calf ThymusDNA)	1mL	2-8 $^{\circ}\text{C}$, 避光

所需器材:

微型荧光计; 微量检测皿适配器; 1cm石英比色

试剂制备:

PicoGreen dsDNA定量试剂是以1mL的浓缩液形式保存在无水的DMSO (二甲基亚砜) 中。实验当天, 配制 $1\times$ PicoGreen试剂的工作溶液, 用TE buffer (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH7.5) 按1:200的比例稀释PicoGreen component-A浓缩液。由于试剂容易吸附到玻璃表面, 要在塑料容器中配制。PicoGreen试剂见光易降解, 所以应将配好的溶液用箔包住或放置暗处避光保存。溶液最好在配制好数小时内使用, 以保证最佳结果。注意: TE buffer是 $1\times$ TE buffer。

实验方法:

1. 标准品工作液的配制:
小牛胸腺嘧啶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 的标准品工作液;
2. 染料工作液的配置:
 $5\mu\text{L}$ PicoGreen加入1mL TE buffer(注意: 用TE buffer将PicoGreen稀释200倍, 现用现配, 注意避光)。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

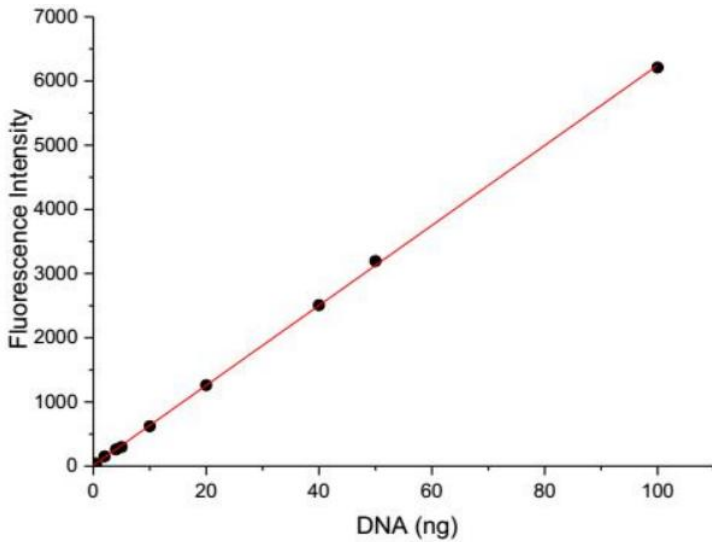
http://www.saint-bio.com

3. 标准品工作液稀释:

- 1) 母液稀释: 取10 μ L (1mg/mL) 标准品工作液加入到 990 μ L TE buffer溶液中, 浓度稀释成10 μ g/mL, 取 10 μ L (10 μ g/mL) 标准品工作液加入到990 μ L TE buffer溶液中, 浓度稀释成100ng/mL;
- 2) 倍比稀释: 取800 μ L (100ng/mL) 的标准品工作液加入到200 μ L TE buffer溶液中, 浓度达到80ng/mL (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), 取500 μ L (80ng/mL) 的标准品工作液加入到500 μ L TE buffer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;

4. 标准曲线的制备: 倍比稀释后的各梯度标准品溶液和染料工作液各取100uL混匀, 避光室温放置5min。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, 可以驱散气泡。以TE buffer缓冲液为blank, 激发波长488nm, 发射波长520nm, 测定样品和空白对照的荧光值; 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。

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



5. 测量样品的荧光值。荧光计将给出一个直接的浓度读数, 数据可以用来产生DNA浓度的标准曲线。

保存条件: 2-8℃避光, 有效期12个月。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com