

## GDS Green I, 10,000X in DMSO

### (荧光定量 PCR 级染料)

货号/规格: P6011 / 500  $\mu\text{L}$

#### 产品简介

GDS Green I 是一种结合于 dsDNA 双螺旋小沟区域的具有绿色发射光的荧光染料, 效能等同于 Sybr Green I。GDS Green I 与 dsDNA 结合后荧光信号会增强 800-1000 倍, 是一种常用的 qPCR 荧光染料。该染料经济实惠、使用方便, 具有高灵敏度与高信噪比等优势, 可应用于基因表达差异分析, 基因芯片等。

#### 产品组成

Component	P6011
GDS Green I, 10,000X in DMSO	500 $\mu\text{L}$

#### 保存条件

4 $^{\circ}\text{C}$  避光保存。使用时应避免反复冻融, 建议分装成小管冻存。

#### 应用举例

##### 1. 配制反应体系

用 DMSO 或无菌超纯水将 10,000X 染料进行稀释, 如稀释 500 倍得到 20X 染料, 用于后续实验。

参考下表配制反应体系:

组分	用量
10X PCR Buffer ( $\text{Mg}^{2+}$ free)	5 $\mu\text{L}$
50 mM $\text{MgCl}_2$ [1]	2.5 $\mu\text{L}$
2 mM dNTP	5 $\mu\text{L}$
20X GDS Green I	2.5 $\mu\text{L}$
Taq DNA polymerase	1-5 U

F, R Primers	0.1-0.5 $\mu\text{M}$ each
模板 DNA [2]	variable
ddH <sub>2</sub> O	补足至 50 $\mu\text{L}$

[1] 提高  $\text{Mg}^{2+}$  浓度可以降低 GDS Green I 对 PCR 反应的抑制作用。建议在用 GDS Green I 进行荧光 PCR 反应时,  $\text{Mg}^{2+}$  浓度比无 GDS Green I 的普通 PCR 反应高出 0.5~3 mM。

[2] DNA 模板的添加量通常在 100 ng 以下。因不同种类的 DNA 模板中含有的靶基因的拷贝数不同, 必要时可进行梯度稀释, 确定合适的 DNA 模板添加量。cDNA 作为模板时的添加量不要超过 PCR 反应液总体积的 10%。

##### 2. 设定反应程序进行 qPCR 反应

请根据实验需要参考以下示例进行程序设置:

阶段	温度	时间	循环数
预变性	94 $^{\circ}\text{C}$	3 min	1
变性	94 $^{\circ}\text{C}$	15 sec	40~45
退火	55-65 $^{\circ}\text{C}$ [1]	15 sec	
延伸 [2]	72 $^{\circ}\text{C}$	20 sec [3]	
Dissociation/Melting curve analysis (optional) [4]			

[1] 最适退火温度需要摸索。退火温度一般设定为所用引物的  $T_m-5^{\circ}\text{C}$ , 若低于 55 $^{\circ}\text{C}$ , 则以  $T_m$  值为退火温度, 一般不低于 55 $^{\circ}\text{C}$ 。

[2] 在此步设置信号采集。

[3] 设置延伸时间时请考虑仪器类型, 有些仪器需要设置 30 sec 以上。

[4] 不同仪器溶解曲线采集程序不同, 一般按仪器默认溶解曲线采集程序即可。

##### 3. 分析结果

观察扩增曲线; 调整基线, 计算 Ct 值; 观察溶解曲线检测特异性; 进行相对或绝对定量。

#### 注意事项

1. GDS Green I 的使用浓度是保证荧光定量 PCR 实验成功的关键因素。染料浓度过低会使荧光信号变化降低, 导致低拷贝的样品可能无法检出, 而在高浓度时又会抑制 PCR 反应。所以一般在使用 GDS Green 染料时应根据实际情况优化使用浓度, 反应的终浓度为 1X 到 0.2X 之间。

2. GDS Green I 荧光染料随着时间的推移可能会在光照下褪色, 从而导致敏感性下降, 因此在存储和使用过程中要避免强光照。

3. GDS Green I 荧光染料应避光存放，原液保存于-20℃；建议分装成小管冻存，短期可以 4℃保存。

4. 为了您的健康，请穿实验服并戴一次性手套进行操作。

本品仅供科学研究使用。