

产品概述

在进行常规PCR分析时，高GC含量的DNA片段因其稳固的二级结构常常难于扩增。在普通PCR反应条件下，DNA聚合酶很难介入到高GC含量的DNA二级结构中。PCR Enhancer是由多种成分组成的混合添加剂，能够有效降低高GC模板和具有复杂二级结构模板的解链温度，且几乎兼容所有DNA聚合酶的扩增体系。当常规PCR程序无法有效扩增目的片段时，加入PCR Enhancer往往能得到意想不到的结果。

产品组分

组 分	P021-01
PCR Enhancer	500 μ l

▲ 本产品可能会降低PCR的保真度。因此，在进行高保真PCR时慎用。本产品浓度为5 \times ，推荐终浓度为1 \times 。

保存条件

-30 ~ -15 $^{\circ}$ C保存， \leq 0 $^{\circ}$ C运输。

质量控制

功能检测：50 μ l PCR体系中加入10 μ l本品，以5 ng质粒为模板，分别扩增GC含量在60% - 80%之间的3个不同目的片段。35个循环后将1/10 PCR产物进行1%琼脂糖凝胶电泳，EB染色，可见有单一的相应条带。

实验流程

以如下反应为例，用Taq DNA Polymerase扩增GC含量为72%的片段。

反应体系

ddH ₂ O	To 50 μ l
10 \times Taq Buffer (Mg ²⁺ plus)	5 μ l
dNTP Mix (10 mM each)	1 μ l
PCR Enhancer	10 μ l
Template DNA ^a	x μ l
Primer1 (10 μ M)	2 μ l
Primer2 (10 μ M)	2 μ l
Taq DNA Polymerase (5 U/ μ l)	0.4 μ l

反应程序

95 $^{\circ}$ C	3 min (预变性) ^b	} 30 - 35 cycles
95 $^{\circ}$ C	15 sec	
60 $^{\circ}$ C ^c	15 sec	
72 $^{\circ}$ C	60 sec/kb	
72 $^{\circ}$ C	5 min (彻底延伸)	
4 $^{\circ}$ C	Hold	

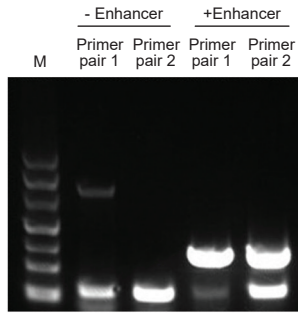
a. 不同模板最佳反应浓度不同，下表为50 μ l反应体系推荐模板使用量：

动植物基因组DNA	0.1 - 1 μ g
大肠杆菌基因组DNA	10 - 100 ng
cDNA	1 - 5 μ l (不超过PCR反应总体积的1/10)
质粒DNA	0.1 - 10 ng
λ DNA	0.5 - 10 ng

b. 该预变性条件适合绝大多数扩增反应，可根据模板结构复杂程度修改。如模板结构复杂，可将预变性时间延长至5 - 10 min以提高预变性效果。

c. 退火温度需要根据引物的T_m值进行调整，一般设置成低于引物T_m值3 - 5 $^{\circ}$ C即可；对于复杂模板，需要调节退火温度和延长延伸时间来实现高效扩增。

琼脂糖凝胶电泳检测



左图为以质粒为模板，primer pair 1和primer pair 2为引物，分别扩增两段大小均为690 bp，GC含量均为72%的片段。结果显示，只有加入PCR Enhancer的实验组才能扩增出如图箭头所示的目的片段。

M:100 bp DNA Ladder

*所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。