

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以扩增。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	P021-02
PCR Enhancer	500 μ l	5 \times 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。

适用范围

适用于高GC模板和具有复杂二级结构的模板。

注意事项

本产品仅供科学研究使用，不得用于临床医学诊断及非合理用途。

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

组分	体积
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
Primer 1 (10 μ M)	2 μ l
Primer 2 (10 μ M)	2 μ l
Taq DNA Polymerase (5 U/ μ l)	0.4 μ l

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：

模板种类	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

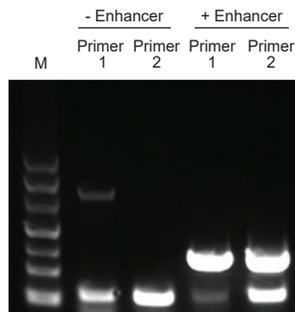
反应程序

组分	时间	循环数
95°C	3 min (预变性) ^b	} 30 - 35 cycles
95°C	15 sec	
60°C ^c	15 sec	
72°C	60 sec/kb	
72°C	5 min (彻底延伸)	
4°C	Hold	

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°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 1和Primer 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