



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 010-58437227 82598075

Fax: 010-82597807

技术支持: 400-699-0631

http:// www.real-tims.com.cn

E-mail: real-times@vip.163.com

2×GC Buffer

● 产品组成:

目录号	规格
RTB3101-01	1ml
RTB3101-02	5×1ml
RTB3101-03	10×1ml

● 保存: -20℃

● 用途:

PCR 扩增复杂结构的 DNA 片段。

● 产品说明和注意事项:

1. 本产品能与各种 PCR 酶配合使用，能够扩增具有复杂二级结构模板（GC rich、重复序列等）的 PCR 片段。
2. 使用 GC Buffer 进行 PCR 扩增时，建议使用 Tm 值较高的引物。因此，引物最好设计在 30 mer 左右。
3. 使用 GC Buffer 扩增的 GC rich 的 DNA 片段长度，会因 GC 含量不同而各有差异。
4. 由于 GC Buffer 和一般的 PCR Buffer 相比 DNA 变性效果较强，因此，一般的 DNA 片段（GC 含量低于 50%的目的片段）不推荐使用 2×GC buffer 进行扩增。

● 使用举例:

以水稻基因组做模板，配合 2×GC buffer 可以很好扩增 Pectinesterase 750bp(GC 含量 72.5%) DNA 片段。

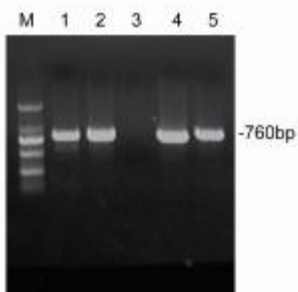


Figure 以水稻基因组为模板，扩增 Pectinesterase 760bp 片段 (GC 含量为 73%)

M: D2000 DNA ladder

1: Long Taq+2×GC buffer, 上样量 3μl/50μl

2: Long Taq+2×GC buffer, 上样量 5μl/50μl

4: LA Taq+2×GC buffer I, 上样量 5μl/50μl

5: LA Taq+2×GC buffer I, 上样量 3μl/50μl

3: Long Taq+10×Long Taq PCR buffer, 无扩增产物

● 使用说明:

1. 按照下表在 0.2ml PCR 管中制备反应体系:

成分	25 μ l 反应体系	50 μ l 反应体系	终浓度
Template	0.05-0.5 μ g	0.1-1 μ g	as you wish
Primer 1 (10 μ M)	0.5 μ l	1 μ l	200nM
Primer 2 (10 μ M)	0.5 μ l	1 μ l	200nM
2 \times GC buffer	12.5 μ l	25 μ l	1 \times
dNTP Mixture(10 mM)	0.5 μ l	1 μ l	200 μ M each
Taq (5 U/ μ l)	0.25-0.5 μ l	0.5-1 μ l	2.5-5U
ddH ₂ O	up to 25 μ l	up to 50 μ l	-

2. 混匀后, 离心快甩将反应液收集到管底。
3. PCR 仪如果没有热盖加热的话, 补加 25 μ l 矿物油。
4. PCR 仪上执行以下程序:

两步法:

步骤	温度	时间	循环数
初始变性	94 $^{\circ}$ C	5 min	1
变性	94 $^{\circ}$ C	30 sec	25-40*
退火和延伸	68 $^{\circ}$ C	1 min/kb	
最后延伸	72 $^{\circ}$ C	5 min	1

*注: PCR 反应条件视模板、引物等的结构条件不同而各异。在实际操作中需根据模板、目的片段的大小、碱基序列和引物的长短等具体情况, 设定最佳的反应条件(温度、时间等)。

● 常见问题:

1. 怎样确定扩增片段的 GC 含量大小?

推荐使用 Oligo 软件分析片段的 GC 含量(如右图所示)。



2. 2 \times GC buffer 能扩增正常 GC 含量片段吗?

2 \times GC buffer 可以扩增 GC 含量正常的模板。然而, 由于 GC buffer 有比较强的变性效果, 因此一般的模板使用 GC buffer 扩增时, 有时会降低扩增效率。

3. 2 \times GC buffer 能兼容大多数 PCR 用酶吗?

2 \times GC buffer 能兼容大多数 PCR 酶, 比如 Taq, Taq plus, Long Taq 等, 可以根据片段长度以及保真性要求选择不同的酶。

4. 使用 GC buffer 扩增时, 为什么推荐使用两步法?

由于目的片段 GC 含量高, 引物的 T_m 值往往会比较高, 在 PCR 时, 当退火温度和延伸温度差距较小时, 比如退火温度超过 60 $^{\circ}$ C 时, 退火温度和延伸温度可以设成同一数值, 一般为 68 $^{\circ}$ C。