



中科瑞泰

2×GC buffer

产品编号及规格:

RTB3101-01	1 ml
RTB3101-02	5×1 ml
RTB3101-03	10×1 ml

储存条件:

-20°C 贮存。

产品简介:

2×GC buffer用于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 T_m 值较高的引物。因此，引物长度最好设计在 30个碱基左右。
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。

使用方法:

1. 彻底融化2×GC buffer，混匀后快甩离心将溶液收集到管底。
2. 按照下表在0.2ml PCR管中制备反应体系:

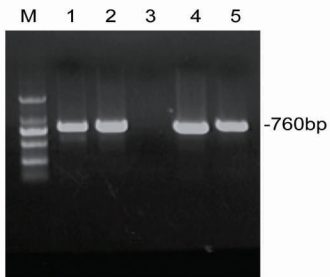
	50μl 反应体系	终浓度
2×GC buffer	25μl	1×
上游引物 10μM	1-5μl	0.2-0.8 μM
下游引物 10μM	1-5μl	0.2-0.8 μM
模板	x μl	10pg-1μg
dNTP 10mM each	1 μl	200 μM each
Taq (5U/μl)	0.5-1 μl	2.5-5 U
水	补至50 μl	-

3. 离心快甩将反应液收集到管底。
4. PCR仪如果没有热盖加热的话，补加 25μl矿物油。

5. 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°C	5 min	1
变性	94°C	30 sec	25-40*
退火和延伸	68°C *	1 min/1kb	
最后延伸	72°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）。



以水稻基因组为模板, 扩增Pectinesterase 760bp 片段(GC 含量为79%)

M: D2000 DNA ladder

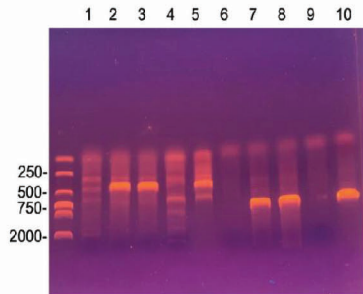
1: Long Taq+2×GC buffer, 上样量3μl

2: Long Taq+2×GC buffer, 上样量5μl

4: LA Taq+2×GC buffer I, 上样量5μl

5: LA Taq+2×GC buffer I, 上样量3μl

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



lane 1-5: Rice 390bp fragment(GC% 77.1%)

lane 6-10: Rice 760bp fragment(GC% 72.9%)

lane 1 and 6: TaKaRa 2×GC buffer I

lane 2 and 7: TaKaRa 2×GC buffer II

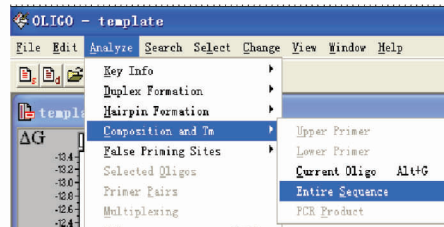
lane 3 and 8: RTB3101 2×GC buffer

lane 4 and 9: RTB3106 10×Taq PCR buffer

lane 5: Rice 390bp, RTB3101 2×GC buffer, 三步法扩增

lane 10: Rice 760bp, RTB3101 2×GC buffer, 三步法扩增

- 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。



- 2×GC buffer能扩增正常GC含量片段吗?
2×GC buffer可以扩增GC含量正常的片段。然而, 由于GC buffer有比较强的变性效果, 因此一般的片段使用GC buffer扩增时, 有时会降低扩增效率。

- 2×GC buffer能兼容大多数PCR用酶吗?
2×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。
- 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°C时, 退火温度和延伸温度可以设成同一数值, 一般为68°C。