

M5 GC Enhancer GC 增强剂使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 GC Enhancer GC 增强剂	1ml	MF278-01

【储存条件】

长期保存，请置于-20°C，有效期 24 个月。经常使用应适量分装，避免污染。

【产品简介】

PCR Enhancers 能够促进各种耐热 DNA 聚合酶对许多复杂结构的 DNA 模板（如高 GC 含量）的有效扩增，增加 PCR 反应的灵敏度和特异性。其原理可能是通过提高 DNA 聚合酶的热稳定性，降低模板 DNA 的二级结构等机制提高目的片段的产量。本产品适合于灵敏度要求较高的 PCR、RT-PCR、Multiplex PCR、PCR 条件的优化和 GC 含量高的 DNA 片段的扩增。由于其作用机制不同，使用不同的模板、引物时，GC Enhancer 提高目的片段产量的效果存在差异，因此建议先摸索出合适的 GC Enhancer 及其添加浓度后再进行 PCR 扩增。

【使用方法】

由于不同的引物对模板的来源、退火温度等条件存在选择性，建议使用时首先配好并分装 PCR 反应体系，然后向 PCR 反应体系中加入不同体积的 GC Enhancer（如 0, 1, 2, 4, 6 μ l），再按常规 PCR 条件进行反应，以寻找最佳的 GC Enhancer 及其添加浓度后再进行 PCR 扩增。

A. 摸索最佳 GC Enhancer 的添加浓度

1. 按需求配制数管 50 μ l PCR 反应：

DNA 模板*	1 μ l
10 x X5 PCR buffer	2 μ l
2 mM dNTP mix	2 μ l
正向引物 (10 μ M)	0.4 μ l
反向引物 (10 μ M)	0.4 μ l
X5 DNA polymerase (1 U/ μ l)	0.4-0.8 μ l
ddH ₂ O	补足至 20 μ l

*模板量：10~1000 ng 基因组 DNA，1~30 ng 质粒，或 1~2 μ l RT-PCR 反应后的 cDNA。

2. 依次加入不同体积的 GC Enhancer，如 1 μ l、2 μ l、4 μ l、6 μ l 等。

3. PCR 反应条件的设置：

95°C 2 min
25~35 循环
94°C 25 sec
55~65°C 25 sec
68°C 0.5 min/1 kb
68°C 5 min

B. 以摸索出来的最佳 GC Enhancer 浓度条件进行新一轮 PCR 扩增。

注意：以上举例为常规 PCR 反应系统，仅供参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异，需根据模板、目的片段的大小，碱基序列和引物长短等具体情况，设定最佳反应条件，并根据比例放大或缩小反应体系。

【注意事项】

1. 绝大多数 GC Enhancer 都会降低 DNA 聚合酶的保真性能和特异性，因此在产量可接受的前提下，尽量选择添加最少量的 GC Enhancer，必要时可采用提高特异性的措施如 hotstart 或 slowdown 技术等。
2. 任何一种 GC Enhancer 都不可能解决所有 PCR 扩增遇到的困难，这是由于 PCR 受多种因素影响造成的。在 PCR 扩增遇到困难时，应先通过设立对照实验，确定问题所在，然后判断不同浓度的 GC Enhancers 是否可能有帮助。

【适用范围】

灵敏度要求较高的 PCR、RT-PCR、Multiplex PCR、PCR 条件的优化和 GC 含量高的 DNA 片段的扩增。

**【备注】**

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。