

2×PrimeSTAR GC Buffer(Mg²⁺ Plus)

TaKaRa Code : DR010GC

包装量 : 1.7 ml

Shipping at -20°C
Stored at -20°C

●制品说明

本制品与 PrimeSTAR HS DNA Polymerase 组合使用,适用于高保真扩增具有复杂二级结构的 DNA 模板(GC rich、重复序列等)。使用本制品扩增得到的 PCR 产物几乎都为平滑末端,经磷酸化后可直接克隆于具有平滑末端的载体中。

●制品内容

组份名称	包装量
2×PrimeSTAR GC Buffer (Mg ²⁺ Plus)*	1.7 ml

* Mg²⁺浓度为 2 mM。

●用途

PCR 法高保真扩增具有复杂二级结构的 DNA 模板。

●实验方法

1. 按下列组份配制 PCR 反应液。

2×PrimeSTAR GC Buffer	25 μl
dNTP Mixture (2.5 mM each)	4 μl
Primer 1	0.2-0.3 μM (final conc.)
Primer 2	0.2-0.3 μM (final conc.)
Template*	<200 ng
PrimeSTAR HS DNA Polymerase (2.5 U/μl)	0.5 μl
dH ₂ O	Up to 50 μl

*【50 μl PCR 反应体系中模板 DNA 推荐使用量】

人基因组 DNA	5 ng ~ 200 ng (<200 ng)
大肠杆菌基因组 DNA	100 pg ~ 100 ng
λDNA	10 pg ~ 10 ng
质粒 DNA	10 pg ~ 1 ng
cDNA Library	1 ~ 200 ng

2. PCR 反应条件*

98°C 10 sec
68°C 1 min/kbp } 30 Cycles

or

98°C 10 sec
60°C 5 sec
72°C 1 min/kbp } 30 Cycles

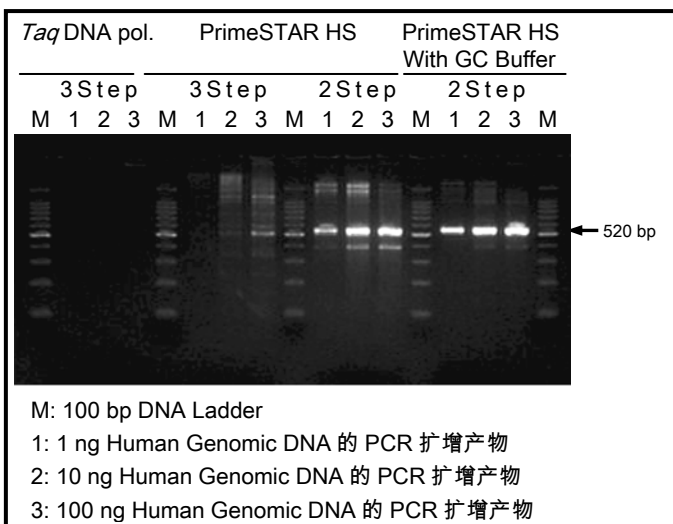
* ① 通常进行 2 Step PCR 反应,当 2 Step PCR 反应得不到良好反应结果时,可以试用 3 Step PCR 反应进行实验。

② 本酶具有高退火效率,在进行 3 Step 的 PCR 条件设定时,可以缩短退火时间。

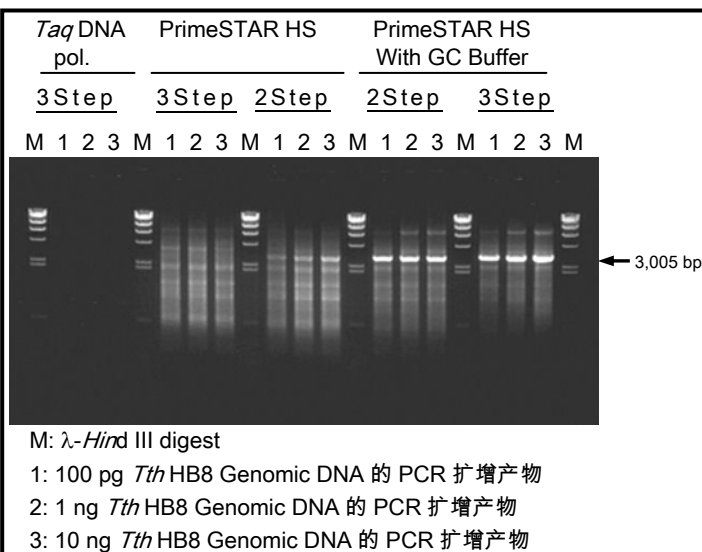
●实验例

使用 *Taq* DNA Polymerase、PrimeSTAR HS DNA Polymerase、PrimeSTAR HS With GC Buffer,按照各自的反应条件,分别扩增了人 APO E 基因 (520 bp, GC 含量 74.8%) 和 *Tth* HB8 基因 (3,005 bp, GC 含量 73.2%),进行了各种 PCR 反应性能比较,结果如下:

【APO E 520 bp DNA 片段的扩增结果】



【*Tth* HB8 3,005 bp DNA 片段的扩增结果】



【结论】

以上两种基因的扩增结果显示,对于 GC 含量高的模板,使用 PrimeSTAR HS With GC Buffer 的扩增效果优于其它反应体系。

●注意事项

PCR 的反应液请在冰中配制,然后置于 PCR 反应仪上进行 PCR 反应。这种冷启动法 (Cool Start Method) 可增强 PCR 扩增的特异性,减少 PCR 过程中的非特异性反应,能得到良好的 PCR 结果。

V2009.09