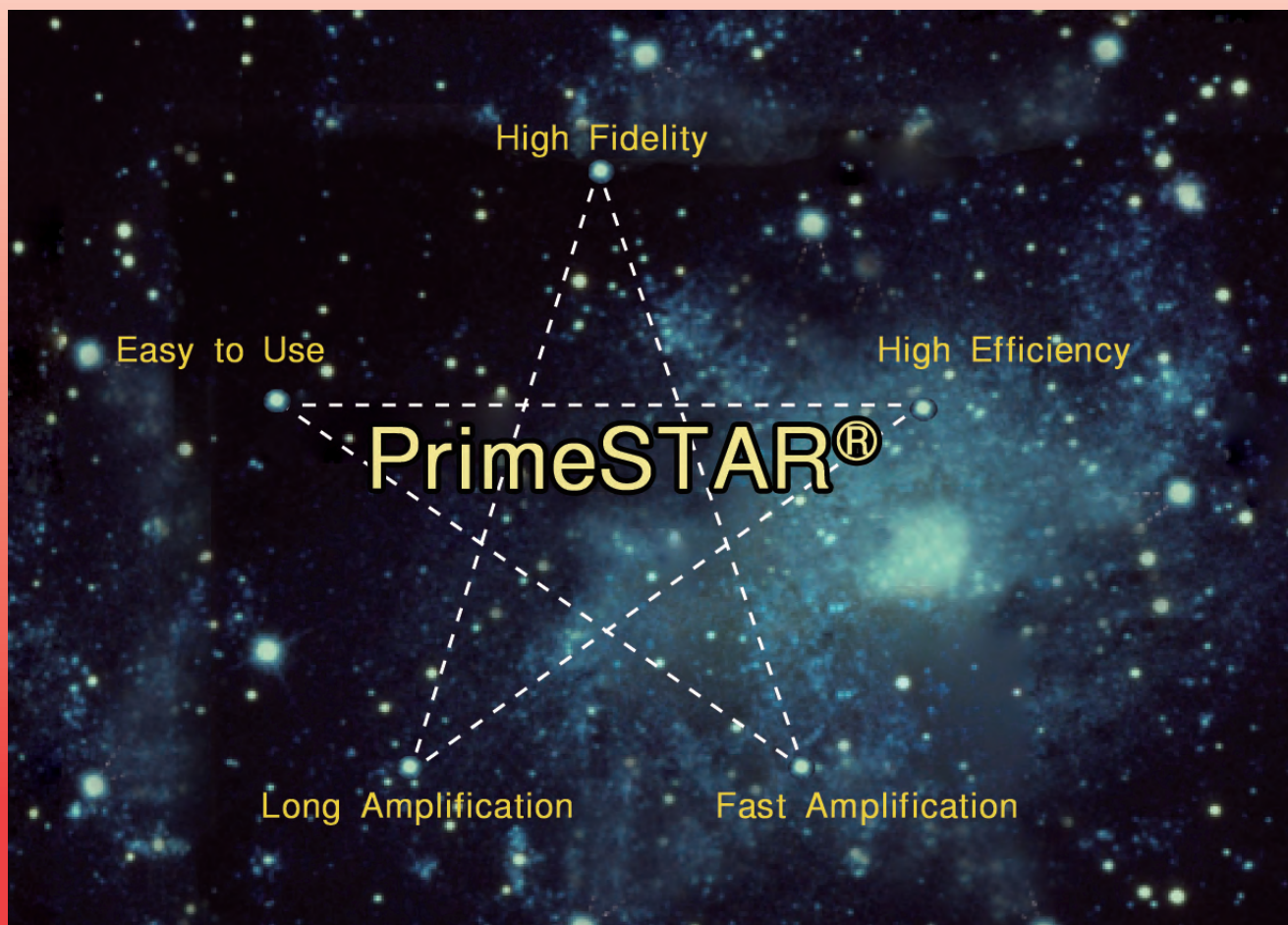


高保真性PCR用聚合酶 PrimeSTAR® 系列



Takara Bio推荐PrimeSTAR®系列!

that's
GOOD
science!

酶	保真性	延伸速度	GC or AT rich 模板的扩增	重复序列的扩增	模板添加量范围	扩增片段大小标准 (人基因组DNA)	Premix type	登载页
PrimeSTAR® HS DNA Polymerase	★★★★☆	★★	★★★	★★	★★	~ 8.5 kb	有	p.2
PrimeSTAR® Max DNA Polymerase	★★★★★	★★★★★	★★★	★★★★★	★★★★☆	~ 6 kb	○	p.5
PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase	★★★★☆	★★★★☆(★)	★★★★★	★★★★★	★★★★★	~ 30 kb	有	p.3-4

PrimeSTAR®系列特点

PCR反应中使用的耐热性DNA Polymerase从构造上大体分为以下两种类型:

- 以 *Taq* DNA Polymerase 为首的嗜热性真细菌来源的 Pol I 型 (family A) DNA 聚合酶
- 以 *Pfu* DNA Polymerase 为代表的嗜热性古细菌来源的 α 型 (family B) DNA 聚合酶

一般 Pol I 型聚合酶都有很强的延伸活性, 但不具有 3'→5' exonuclease 活性, 因 TdT (Terminal deoxynucleotidyl Transferase) 活性使 PCR 产物的 3'-末端附加一个 "dA" 碱基。而 α 型 DNA 聚合酶虽有更强的耐热性, 显示出很强的 3'→5' exonuclease 活性, 但延伸速度慢, PCR 扩增产物的 3'-末端为平滑末端。

PCR用聚合酶的类型	Pol I 型 (family A)	α 型 (family B)
来源	Prokaryote	Archaea
3'-5' exonuclease活性	×	○
5'-3' exonuclease活性	○	×
PCR扩增产物的3'-末端形状	附加 "dA" 碱基	平滑末端
酶名称	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Taq</i> 系列 ▪ EmeraldAmp 等 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ PrimeSTAR 系列 ▪ <i>Pfu</i> 等

高保真聚合酶大部分都是 α 型 DNA 聚合酶

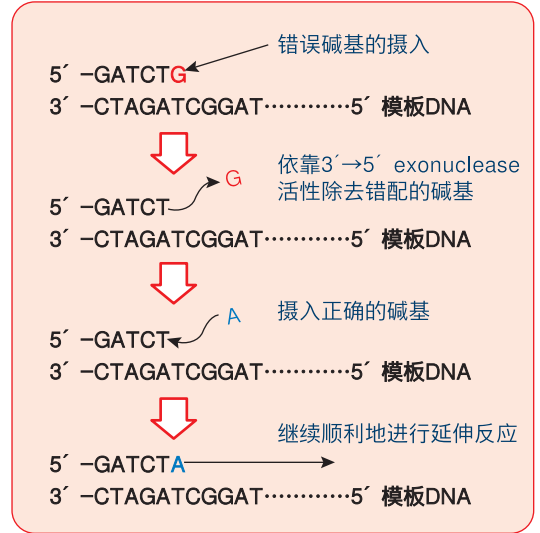
在 DNA Polymerase 作用下, DNA 由 5'→3' 方向合成复制时, 有时会出现错误碱基的摄入, 此时 α 型聚合酶依靠所具有的 3'→5' exonuclease 活性将错配的碱基除去, 摄入正确的碱基, 继续顺利地进行延伸反应。因此, α 型聚合酶在 DNA 合成中的保真性大大高于 Pol I 型聚合酶。

但是, 以往的 α 型聚合酶存在以下几个缺点:

- 反应时间长。
- 扩增效率低, 不适用于大片段 DNA 以及 GC rich、AT rich 靶基因的扩增。
- 模板 DNA 的使用量范围小, 模板使用量多时对 PCR 反应有阻害作用。
- 反应条件要求繁琐, 不利于操作。



Takara Bio 的 PrimeSTAR® 系列产品是以「便于操作」「反应性能好」为理念研发的高保真聚合酶!



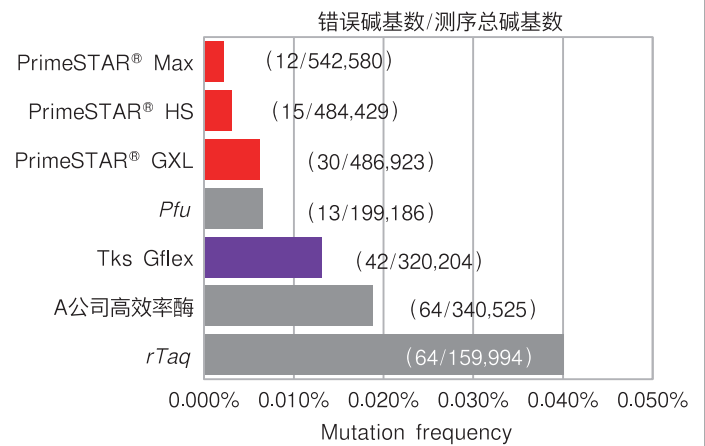
PrimeSTAR®系列特点!

高保真性

使用 PrimeSTAR 系列 PCR 酶进行扩增反应, 对其产物 (约 50 万个碱基) 进行测序, 仅有 10-30 个碱基发生了错配。PrimeSTAR 系列的保真性高于 *Pfu* DNA Polymerase, 对于要求保真性的克隆等可以放心进行 PCR 扩增。

错配率计算方法:

以 GC rich 易产生突变的 *Thermus thermophilus* HB8 基因组 DNA 为模板, 任意选择 10 个区域进行 PCR 扩增后 (扩增大小分别约为 500 bp), 克隆至载体, 对各序列挑取多个克隆测序确认碱基序列。根据测序分析的总碱基数和错误碱基数计算 mutation frequency (PCR error rate)。

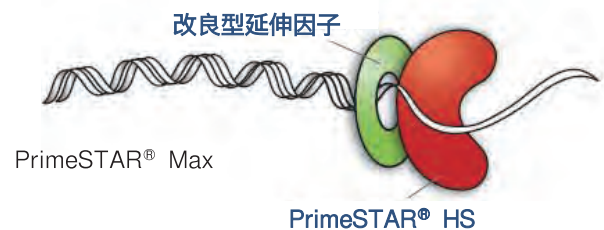


(Takara Bio Inc. 比较结果)

PrimeSTAR® Max 及 GXL, 采用特别开发的延伸因子, 进一步提升扩增速度及延伸性能

在生物体内, DNA Polymerase 通过与延伸因子形成复合体后进行 DNA 的复制。PrimeSTAR Max 是在 PrimeSTAR HS 的基础上, 通过添加本公司特别开发的延伸因子, 从而达到与生物体内 DNA 复制同样高的保真性和快速性。

(PrimeSTAR® GXL 请参照 page 3)



高性价比的基础型高保真PCR酶

■ 产品信息

基础型高保真PCR酶

PrimeSTAR® HS DNA Polymerase

使用便捷的Premix型

PrimeSTAR® HS (Premix)

GC rich基因高保真扩增PCR酶

PrimeSTAR® HS DNA Polymerase with GC Buffer

Code No.	包装量
R010A	250 U
R010B (A × 4)	250 U × 4

Code No.	包装量
R040A	100 Rxns

Code No.	包装量
R044A	250 U
R044B (A × 4)	250 U × 4

- **校正活性强**，具有高效的3'→5' exonuclease活性
- Priming效率高，退火时间设置为**5~15 秒**即可实现特异性高的PCR扩增
- PrimeSTAR®系列中**性价比最高**

■ 实验数据

【1】 PrimeSTAR® HS与各公司高保真PCR酶扩增效率的比较

【实验条件】

模板 : 人基因组DNA
 目的基因 : *DCLRE1A* 基因 (2 kb)
 PCR条件 : 30 cycles
 PrimeSTAR® HS的反应条件: 98°C 10 sec
 55°C 5 sec
 72°C 2 min } 30 Cycles
 其他公司试剂: 使用各公司推荐的操作流程

模板使用量 (50 μl 反应体系)
 Lane N : Negative Control (无模板)
 1 : 100 pg
 2 : 1 ng
 3 : 10 ng
 4 : 100 ng
 M : λ-*Hind* III digest

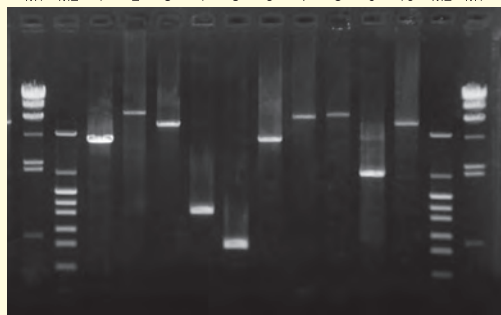
(Takara Bio Inc. 比较结果)



➡ PrimeSTAR® HS同其他公司高保真PCR酶相比，即使在模板量很少的情况下也能高效率地扩增。

【2】 在同一反应条件下使用PrimeSTAR® HS对各种片段大小的不同靶基因进行PCR扩增

M1 M2 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 M2 M1



靶基因:

Lane 1 : *DCLRE1A* 4 kb
 2 : β-globin 8.5 kb
 3 : β-globin 6 kb
 4 : *DCLRE1A* 1 kb
 5 : p53 0.5 kb
 6 : p53 4 kb
 7 : β-globin 7.5 kb
 8 : *DCLRE1A* 8 kb
 9 : *DCLRE1A* 2 kb
 10 : p53 6 kb
 M1 : λ-*Hind* III digest
 M2 : pHY Marker

【实验条件】

模板:
 100 ng 人基因组DNA
 (50 μl 反应体系)
 反应条件:
 98°C 10 sec
 68°C 8 min } 30 Cycles

➡ PrimeSTAR® HS对0.5~8.5 kb的靶基因都可高效率地进行扩增。

高通用性高保真PCR酶的新选择

产品信息

对于追求保真性的长链扩增能够发挥优势

PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase

与PrimeSTAR® GXL性能相当的Premix型产品

PrimeSTAR® GXL Premix

Premix+Dye plus型高速长链高保真PCR酶

PrimeSTAR® GXL Premix Fast, Dye plus



Code No.	包装量
R050A	250 U
R050B (A × 4)	250 U × 4

Code No.	包装量
R051A	200 Rxns
R051B (A × 4)	200 Rxns × 4

Code No.	包装量
R052A	200 Rxns
R052B (A × 4)	200 Rxns × 4

- 对于人基因组DNA能够进行**30 kb**左右的长链扩增
- 可对应**GC rich**, **AT rich**及**高模板量**, 是一款兼具**高通用性**的高保真酶
- 优化用于高速PCR扩增的**2X预混型试剂**, 加入了色素, 可直接电泳 (*1)

※1: 只有R052A/B对应

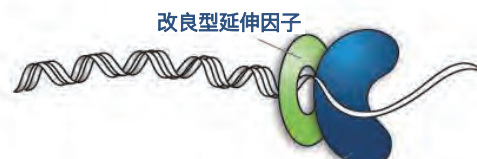
PrimeSTAR® GXL采用的技术

● 突变型酶, 能够抑制非特异结合

DNA Polymerase本身与模板DNA结合时会阻碍引物的延伸。一般的α型酶容易产生非特异结合, 使PCR扩增难以进行。为改善该情况, 我们对PrimeSTAR® HS进行了改良, 成功的抑制了酶与模板DNA的过剩结合。

● 采用特别开发的延伸因子

在生物体内, DNA Polymerase通过与延伸因子形成复合体进行PCR反应。改良型DNA聚合酶与本公司特别开发的延伸因子相组合, 形成具有更高延伸性和通用性的PCR酶。

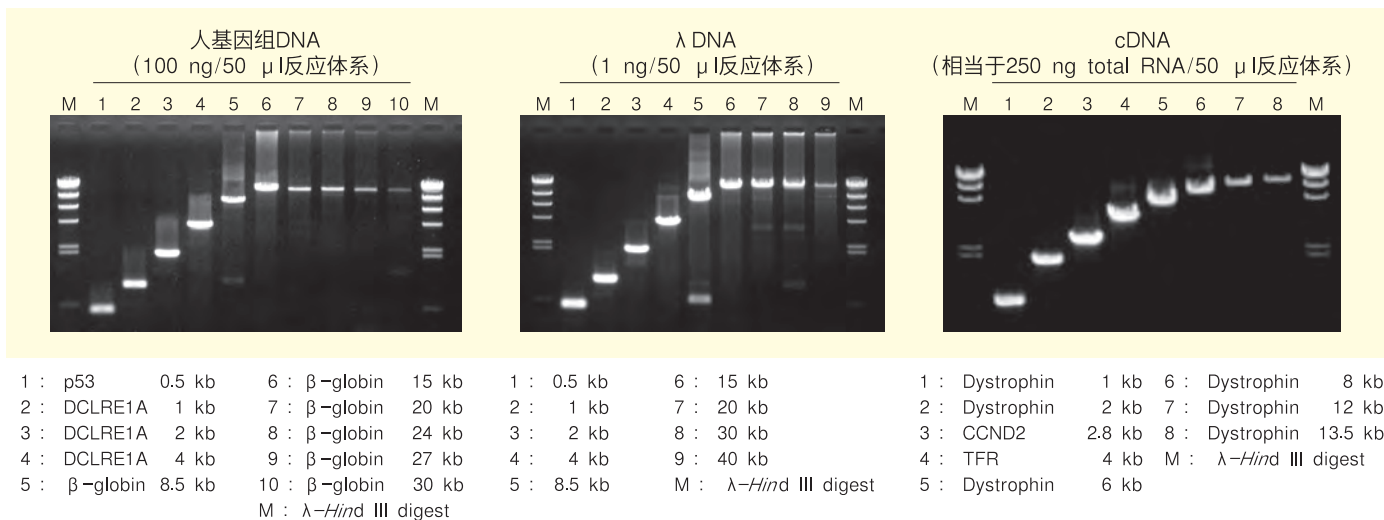


PrimeSTAR® HS突变体

实验数据

【1】长链目的基因的扩增

【方法】 根据PrimeSTAR® GXL的推荐条件, 扩增不同模板的目的基因。



➔ 以人基因组DNA为模板可获得30 kb、以λ DNA为模板可获得40 kb、以cDNA为模板可获得13.5 kb的扩增产物, 显示出PrimeSTAR® GXL对各种靶基因都具有好的延伸性。

高通用性高保真PCR酶的新选择

【2】扩增GC rich目的基因的反应性比较（同其他公司高保真PCR酶的比较）

目的基因富含GC序列时，经常会导致PCR难以扩增。使用本公司的酶与其他公司的PCR酶对难以扩增的GC rich模板进行PCR反应，对其反应性能进行比较。

模板：人基因组DNA (100 ng/50 μl反应体系)

靶基因：

Lane 1: APOE 746 bp (GC含量 74%)
2: TGFβ1 2,005 bp (GC含量 69%)

模板：*T.thermophilus* HB8基因组DNA (10 ng/50 μl反应体系)

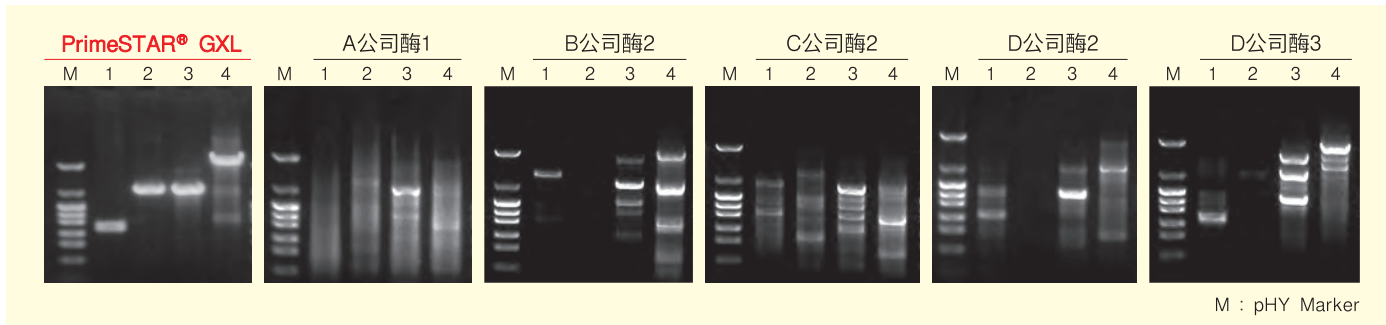
靶基因：

Lane 3: 2,029 bp (GC含量 74%)
4: 4,988 bp (GC含量 74%)

各公司的反应条件：

D公司酶3：适用于GC rich模板
B公司酶2：使用GC Buffer

(Takara Bio Inc.比较结果)



➡ PrimeSTAR® GXL对GC rich的模板可进行高效率扩增，同时也显示出很高的反应特异性。

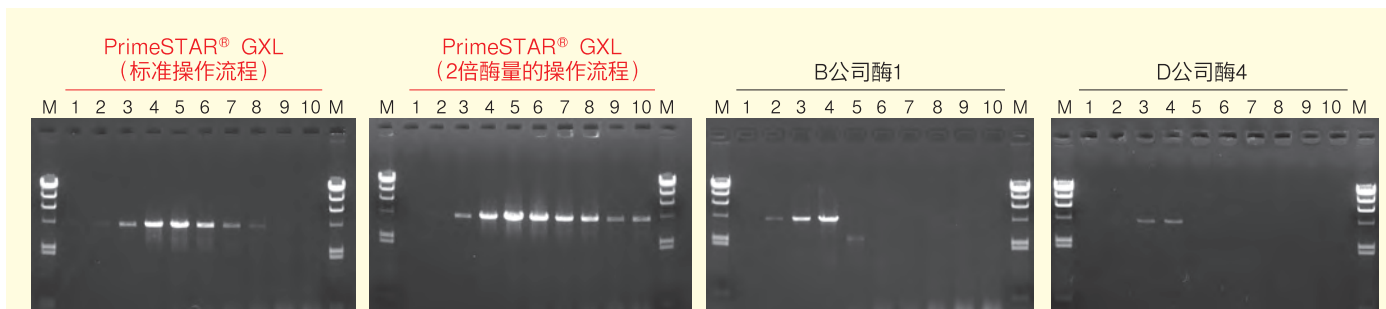
【3】反应灵敏度和模板使用量范围（同其他公司酶及2倍酶使用量的比较）

PCR产物克隆时，因要求扩增产物的保真性，经常会使用高保真PCR酶。

但是，通常的高保真PCR酶容易受反应液中核酸量的影响，因此以cDNA为模板的扩增比较困难。以下以cDNA为模板，使用各公司的高保真PCR酶进行PCR扩增反应，对模板使用量进行研讨。

【方法】从HL60细胞中提取Total RNA进行反转录反应得到cDNA，以该cDNA为模板，对4 kb的TFR基因进行PCR扩增，确认不同模板量对扩增反应的影响。反应液配制及PCR条件按各酶推荐的操作流程进行。

(Takara Bio Inc.比较结果)



98°C 10 sec
60°C 15 sec
68°C 4 min } 30 Cycles

98°C 10 sec
60°C 15 sec
68°C 40 sec } 30 Cycles

98°C 30 sec
↓
98°C 5 sec
60°C 10 sec
68°C 1 min } 30 Cycles
↓
72°C 5 min

94°C 1 min
↓
98°C 20 sec
60°C 20 sec
68°C 2 min } 30 Cycles
↓
72°C 3 min

模板使用量：cDNA (相当于Total RNA量) 50 μl反应体系

Lane 1: 25 pg 4: 25 ng 7: 750 ng 10: 2 μg
2: 250 pg 5: 250 ng 8: 1 μg M: λ-Hind III digest
3: 2.5 ng 6: 500 ng 9: 1.5 μg

➡ 同其他公司酶相比，PrimeSTAR® GXL可以在宽广浓度范围内对cDNA进行良好的扩增。同时按照PrimeSTAR® GXL 2倍酶量说明操作时，确认反应能够快速进行且模板使用量范围更广。

★ PrimeSTAR® GXL对于重复序列的模板也能够发挥正确扩增的威力。详见P5实验例【2】

高水平的保真性和反应速度

■ 产品信息

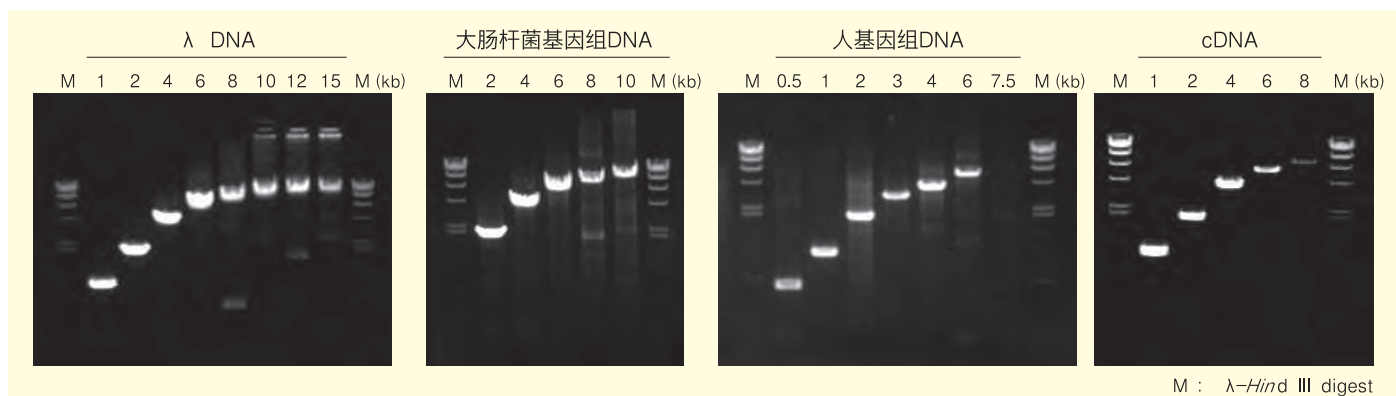
PrimeSTAR系列中反应速度最快&保真性最高
PrimeSTAR® Max DNA Polymerase
 (Premix type)

Code No.	包装量
R045A	100 Rxns
R045B (A × 4)	100 Rxns × 4

- 通过采用特别的延伸因子，实现**5~10 秒/kb**的快速反应
- Takara Bio PCR酶中**保真性最高**，尤其适用于PCR克隆
- 不仅单纯的错配率低，**重复序列的缺失及插入引起的突变率也很低**

■ 实验数据

【1】使用各种模板可获得的DNA片段大小（快速PCR反应）



模板	λ DNA	大肠杆菌基因组DNA	人基因组DNA	cDNA
模板大小	1-15 kb	2-10 kb	0.5-7.5 kb	1-8 kb
PCR	98°C 10 sec 55°C 5 or 15 sec* 72°C 5 sec 30 cycles	98°C 10 sec 55°C 5 or 15 sec* 72°C 5 sec 30 cycles	98°C 10 sec 55°C 5 or 15 sec* 72°C 5 sec 30 cycles	98°C 10 sec 55°C 5 or 15 sec* 72°C 10 sec 30 cycles
	*Tm值 55°C以上时 5 sec 不足55°C时15 sec	*Tm值 55°C以上时 5 sec 不足55°C时15 sec	*Tm值 55°C以上时 5 sec 不足55°C时15 sec	*Tm值 55°C以上时 5 sec 不足55°C时15 sec
扩增链长	15 kb (5 sec/kb)	10 kb (5 sec/kb)	6 kb (5 sec/kb)	6 kb (10 sec/kb)

【2】重复序列的突变率

【方法】使用以下各酶扩增包含-(GA)₈-的重复序列500 bp(λ DNA来源的序列中插入重复序列)后，克隆至载体，挑取多个克隆确定序列，分析重复序列产生的错配率。

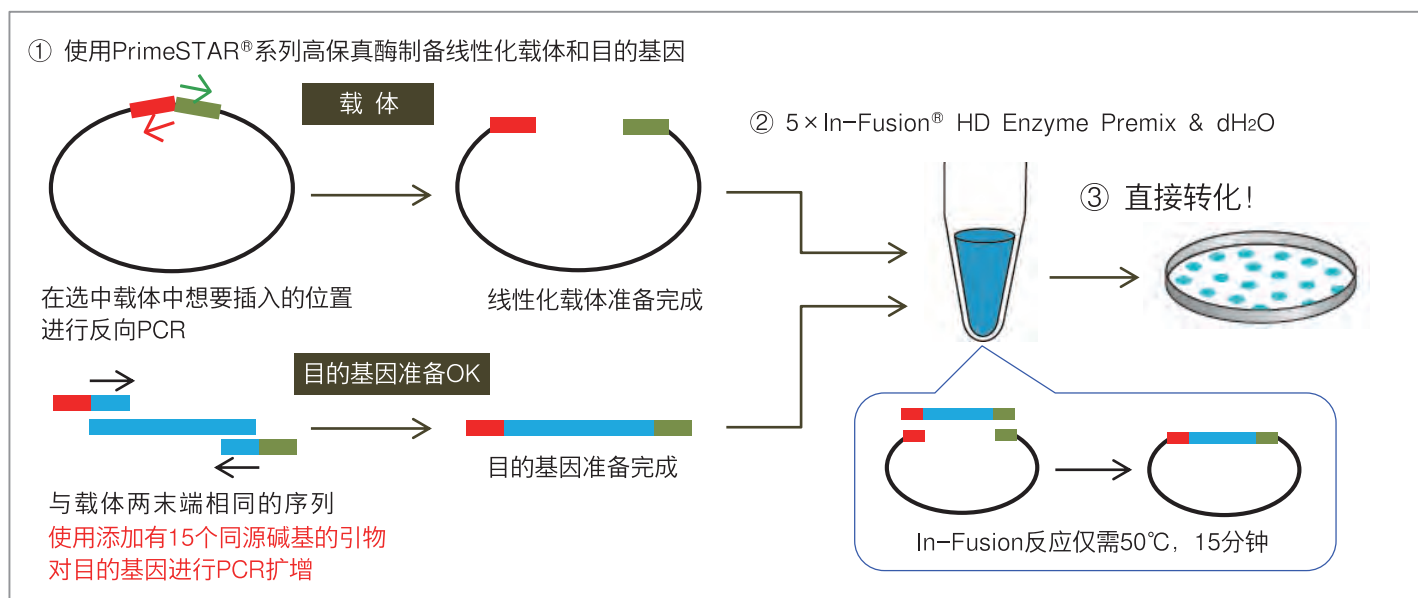
	全克隆数	重复序列的缺失·插入			突变克隆数	突变克隆的比例
		-2(GA)	-1(GA)	+1(GA)		
<i>Taq</i>	261	3	21	2	26	10.00%
PrimeSTAR® HS	250	5	25	2	32	12.80%
PrimeSTAR® Max	201	0	5	0	5	2.49%
PrimeSTAR® GXL	167	0	4	0	4	2.40%
A公司酶1 (α型)	131	2	15	1	18	13.74%
A公司酶2 (α型)	172	2	15	9	26	15.12%



已确认通过添加改良型延伸因子，大大提高了PrimeSTAR® Max和PrimeSTAR® GXL的持续合成能力，扩增重复序列时也表现出很好的正确性。

应用介绍

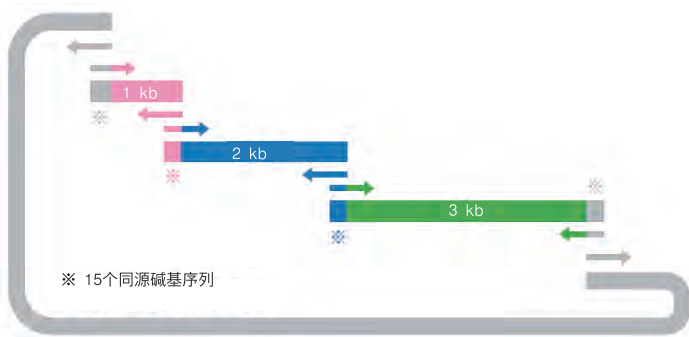
与In-Fusion®组合实现更快速的基因克隆



- ✓ 只要在载体和插入片段的末端有15 bp的相同序列，In-Fusion酶就可以将两者连接，可在任意载体的任意位置进行定向克隆。
- ✓ 从短链到长链都可以有效克隆。
- ✓ 可进行多个DNA片段一次性插入的多片段克隆。

与PrimeSTAR®系列组合，使克隆更有效!

实验例：多个DNA片段（1 kb, 2 kb, 3 kb）同时克隆



使用PrimeSTAR® Max分别扩增1 kb, 2 kb, 3 kb 3种插入片段与全长2.7 kb的载体，利用In-Fusion® HD Cloning Kit进行定向克隆。转化后随机挑取10个克隆，进行菌落PCR确认插入片段，确定有7个克隆是正确插入1 kb+2 kb+3 kb片段阳性克隆。

Insert size	1 kb+2 kb +3 kb
转化克隆数（1/5涂布）	192
正确转化的比例	7/10


可用于下一代测序（NGS）

对于下一代测序（NGS）分析，PCR反应是非常重要的技术之一。Takara Bio配有适用于NGS的各种情况的PCR酶，PrimeSTAR®系列是其中之一。为了靶基因区域的解析，请根据样品制备、NGS文库的制作及PCR扩增等不同实验目的选择使用。

产品名称	文库扩增	长链 扩增子测序	高保真扩 增子测序	16S菌群分析	单细胞起始	
					DNA测序	RNA测序
TaKaRa Taq™ HS Low DNA	★	★	★	★★★★	★	★
Tks Gflex™ DNA Polymerase Low DNA	★★	★★	★★	★★	★★★★	★★
PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase	★★	★★★★	★★	★★	★	★
PrimeSTAR® Max DNA Polymerase	★★	★	★★★★	★★	★	★
Tks Gflex™ DNA Polymerase	★★★★	★★★★	★★	★★	★★	★★

制品一览

PrimeSTAR®系列制品一览

产品名称	Code No.	包装量 (※)
PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase	R050A	250 U
	R050B (A × 4)	250 U × 4
PrimeSTAR® GXL Premix	R051A	200 Rxns
	R051B (A × 4)	200 Rxns × 4
PrimeSTAR® GXL Premix Fast, Dye plus 	R052A	200 Rxns
	R052B (A × 4)	200 Rxns × 4
PrimeSTAR® Max DNA Polymerase	R045A	100 Rxns
	R045B (A × 4)	100 Rxns × 4
PrimeSTAR® HS DNA Polymerase	R010A	250 U
	R010B (A × 4)	250 U × 4
PrimeSTAR® HS (Premix)	R040A	100 Rxns
PrimeSTAR® HS DNA Polymerase with GC Buffer	R044A	250 U
	R044B (A × 4)	250 U × 4

※反应次数以50 μl反应体系的次数表示。

【关联制品】

产品名称	概要	Code No.	包装量
PrimeScript™ II High Fidelity RT-PCR Kit	PCR酶使用PrimeSTAR® GXL	R023A	50 Rxns
		R023B	50 Rxns × 4
PrimeScript™ High Fidelity RT-PCR Kit	PCR酶使用PrimeSTAR® Max	R022A	50 Rxns
		R022B	50 Rxns × 4
Mighty TA-cloning Reagent Set for PrimeSTAR®	平滑末端加A后进行TA克隆	6019	20 Rxns
In-Fusion® HD Cloning Kit	In-Fusion克隆试剂，通过与PrimeSTAR系列搭配使用，可正确且高成功率地进行克隆。	639648	10 Rxns
In-Fusion® Snap Assembly Master Mix		638947	10 Rxns
Tks Gflex™ DNA Polymerase	扩增成功率高的PCR酶，使用PrimeSTAR系列难以扩增时请尝试使用该酶！	R060A	250 U
		R060B	250 U × 4
MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.3	对于阻碍物质的耐性很高，推荐用于粗提样品	R076A	250 U
		R076B	250 U × 4



产品名称	扩增效率	准确性	特异性	粗提耐性	扩增长度 (人基因组)	PCR产物末端形状
Tks Gflex™ DNA Polymerase	★★★★★	★★★	★★★★★	★★★★	~ 30 kb	平滑末端
PrimeSTAR® Max DNA Polymerase	★★★	★★★★★	★★★	★	~ 6 kb	平滑末端
PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase	★★★★	★★★★	★★★★	★★★	~ 30 kb	平滑末端
MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.3	★★★★★	★	★★★	★★★★★	~ 2 kb	A突出

- 本宣传页上登载的制品，都是以科研为目的。请不要用于其它方面，如：不要用于人、动物的临床诊断和治疗。也不能用于食品、化妆品及家庭用品等方面。
- 未经本公司许可，严禁产品的转售·转让、以转售·转让为目的的产品更改、以及用于商品的制造。
- 专利许可信息请在本公司网站上确认：<https://www.takarabiomed.com.cn/>。
- 本宣传页上登载的公司名称及制品名称即使没有特殊标注，使用的也是各公司的商标或注册商标。
- 本宣传页上记载的产品信息是2021年12月8日的信息，最新信息请参考公司官网。

Ver.1 2021年12月印刷 3K