

PCR Enzymes Guide

that's
GOOD
science!™

Clontech **Takara** cellartis

Takara 从 1994 年开始销售 PCR 酶「*TaKaRa Taq™*」「*TaKaRa Ex Taq®*」以来，为了满足众多研究人员的各种要求，一直致力于新产品的开发。作为 PCR 酶的重要企业，此次通过本手册非常自信地向您推荐和介绍 PCR 酶及其相关制品。

PCR Enzymes Guide Contents

● 产品选择指南	
● PCR Enzymes 的选择	2
● 特别介绍	
● PCR 的原理	3
● 已经试用过 Hot Start Version 吗?	4
● PCR 应用例	5
● Takara 引以自傲的 PCR 技术介绍	8
● 多功能酶	
● Tks Gflex™ DNA Polymerase	10
● Tks Gflex™ DNA Polymerase Low DNA	12
● <i>TaKaRa Tth / TaKaRa Tth Hot Start Version</i>	13
● PrimeSTAR® 系列	
● PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase	16
● PrimeSTAR® Max DNA Polymerase	18
● PrimeSTAR® HS DNA Polymerase	19
● Taq 酶系列及其相关制品	
● <i>TaKaRa Ex Taq®</i>	21
● <i>TaKaRa LA Taq®</i>	23
● SpeedSTAR™ HS DNA Polymerase	25
● <i>TaKaRa Taq™</i>	26
● <i>TaKaRa Taq™ HS Perfect Mix</i>	27
● <i>TaKaRa Taq™ HS Low DNA</i>	28
● MightyAmp™ 系列	
● MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.3	30
● MightyAmp™ Genotyping Kit	31
● Dye Plus PCR 用 Premix 试剂	
● Premix <i>Taq™</i> 系列 plus dye 产品	34
● EmeraldAmp® MAX PCR Master Mix	35
● EmeraldAmp® PCR Master Mix	37
● SapphireAmp® Fast PCR Master Mix	37
● 特殊用途 PCR 酶	
● <i>TaKaRa Taq™ HS PCR UNG plus</i>	39
● <i>TaKaRa PCR Carryover Prevention Kit</i>	39
● Multiplex PCR Assay Kit Ver.2	40
● <i>TaKaRa EpiTaq™ HS (for bisulfite-treated DNA)</i>	41
● RT-PCR Kit	42
● 实验应用 (实验例 1~6)	45
● Q&A - 为了顺利进行 PCR 扩增	49
● End Point PCR 扩增仪	53

PCR Enzymes 的选择

想在简单的条件下进行 PCR 扩增

高成功率! 适用于各种情况

Tks Gflex™ DNA Polymerase

采用特别开发的特异性促进因子, 对粗提样品、GC 或 AT Rich 的样品及长链 DNA 都可得到高特异性、高成功率的扩增结果。

同时推荐...

Tks Gflex™ DNA Polymerase Low DNA
可抑制胸中残留 DNA, 适用于单细胞 PCR

Lysis Buffer for PCR

粗提样品的裂解用试剂
与 Tks Gflex 配套使用可更简便地进行 PCR 扩增!

以克隆为目的, 保真性非常重要! 想在短时间内进行 PCR 反应!

高保真 PCR

PrimeSTAR® Max DNA Polymerase

制品中添加了特别开发的延伸因子, 大幅提高了保真性和延伸性, 是一款值得信赖的高保真 PCR 酶。

同时推荐...

PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase
高保真 & 长链 PCR 扩增

In-Fusion® HD Cloning Kit
在任何载体的任何位点上完成定向克隆

常规 PCR

基本的 PCR

TaKaRa Ex Taq®

PCR 反应的理想酶! 是一款深受广大用户喜爱的 PCR 酶。
比普通 Taq 酶有着更高的检测灵敏度和扩增量。

同时推荐...

TaKaRa LA Taq®
适合长链扩增

样品想直接进行 PCR 扩增!

强大的 PCR

MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.3

对于 PCR 阻遏物含量较多的粗提样品, 或 GC Rich, AT Rich 的模板均可有效扩增。

同时推荐...

MightyPrep reagent for DNA
仅需 95°C 加热 10 分钟即可简易提取 DNA

常规 PCR
菌落 PCR
插入片段检测

Dye Plus PCR 用 Premix 试剂

Premix Taq (Takara Taq™ version 2.0 plus dye)

性价比高, 反应性能好。
是含有比重剂的完全预混型制品。

同时推荐...

Emerald® PCR Master Mix
Hot Start 型预混酶

SapphireAmp® Fast PCR Master Mix
高速型预混酶

想以亚硫酸氢盐处理后的 DNA 为模板进行 PCR 扩增

用于表观遗传学分析

TaKaRa EpiTaq™ HS (for bisulfite-treated DNA)

适用于多种 PCR 酶难以扩增的含尿嘧啶 DNA 的扩增! 可高效、特异性扩增。

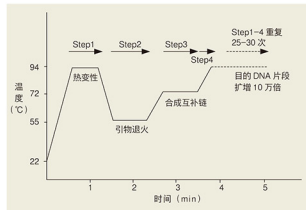
PCR的原理

PCR(Polymerase Chain Reaction)法是指

- DNA 双链的热变性 (denaturation step)
- Primer 退火 (annealing step)
- Polymerase 合成互补链 (extension step)

通过重复上述过程进行体外扩增 DNA 的方法。

通过该方法,可在几个小时内扩增目的 DNA 片段至少 10^8 倍。



PCR实验的基本流程

1. DNA 制备
样品中 DNA 提取
2. PCR
• 反应液配制
• PCR 反应
3. 电泳染色

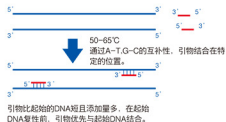


生物材料中提取的DNA与PCR酶、dNTP、primer混合,制备反应液。反应液放入PCR仪中进行PCR反应。扩增获得的PCR产物,通过凝胶电泳确认。

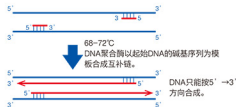
Step1: 双链 DNA 经热变性解离为单链



Step2: 形成单链的 DNA 通过酶的作用与 DNA 合成必需的引物 (较短的单链 DNA) 结合。

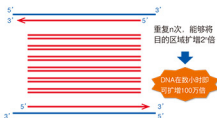


Step3: 从结合的引物位置开始,通过 DNA 聚合酶合成起始 DNA 的互补链。



Step4: 扩增形成的双链 DNA 再次热变性形成单链

重复 Step1-4 数次,扩增特定区域的 DNA (理论上是 1 次 2 倍)



已经试用过Hot Start Version吗?

Takara的Hot Start PCR酶……

高效抑制非特异性扩增

在反应液温度达到高温前, 抗体一直抑制聚合酶的活性。
有效抑制PCR循环前由引物错配或引物二聚体产生的非特异性扩增。(参照①)。

PCR再现性高

可以在室温调制反应液。(各组分置于冰上)
因为受反应液调制时的温度及时间的影响很小, 所以减少了操作对结果的影响。

不需要追加特殊的反应步骤※

抑制聚合酶活性的抗体在PCR反应最初的变性时就迅速失活, 聚合酶活性得以完全恢复。与化学修饰的Hot Start PCR酶不同, 不需要长时间的活性化步骤。(参照②)

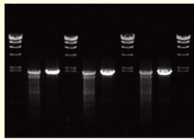
丰富的制品群

Takara大多数的PCR酶都有Hot Start Version。在同样的循环条件下, 可以放心使用Hot Start Version替换以前的酶, 基本性能一样。

※ MightyAmp™ 系列PCR酶由于使用了高效的Hot Start抗体, 因此必须进行 [98°C, 2 min] 的预变性。

① 普通酶与Hot Start Version的比较

3名实验者分别使用TaKaRa Ex Taq® 及TaKaRa Ex Taq® Hot Start Version。在相同的条件下进行PCR扩增。在室温进行反应液的配制(各组分置于冰上)。



模板 : Human genomic DNA
Target : DCLRE1A (2 kb)
装置 : Thermal Cycler Dice™ Standard
PCR条件: 98°C 10 sec
55°C 30 sec } 30 Cycles
72°C 2 min

N : TaKaRa Ex Taq
HS : TaKaRa Ex Taq Hot Start Version
M : λ-Hind III digest

★ 使用Hot Start Version可以很好地抑制非特异性扩增。

② 抗体型与化学修饰型酶在循环条件上的差异

◆ 使用普通酶时的PCR条件

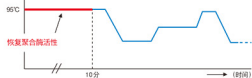


◆ 使用抗体型Hot Start PCR酶时的PCR条件



可以使用与普通酶完全相同的条件!

◆ 使用化学修饰型Hot Start PCR酶的PCR条件



化学修饰型酶要增加加热变性步骤, 使反应时间大幅增加。

PCR 应用例

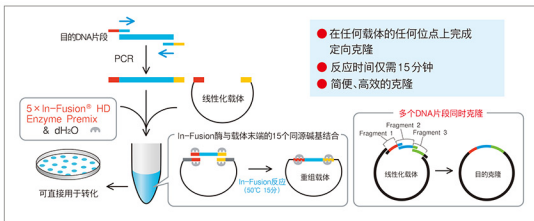
简便、高效的定向克隆试剂盒

In-Fusion® HD Cloning Kit (Code No.639648/639649/639650)

高保真性PrimeSTAR®系列与In-Fusion®配套使用,可进行高效基因克隆。

如果特别使用可快速进行PCR反应的PrimeSTAR® Max,可大幅缩短反应时间,快速进行基因克隆。

「实验应用」请参考实验应用中介绍的实验例(47页,实验例4)。



★制品群中加入了含高保真性PCR酶和感受态细胞的All In One型(Plus)及冻干型(EcoDry™)制品。制品群及各制品请浏览本公司官网。

另外,网站中为您提供了In-Fusion 克隆用引物设计工具「In-Fusion Primer Design Tool」, 欢迎使用。

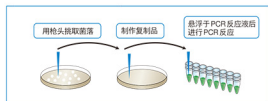
Online Tools for In-Fusion



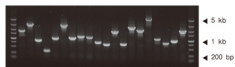
菌落 PCR

质粒构建是否成功,可以通过对转入质粒的大肠杆菌直接进行PCR判断。菌落PCR能够在进行大肠杆菌培养时、纯化质粒前,识别出是否含有正确构建的质粒,更有利于实验的快速进行。

菌落PCR推荐使用含有dye的EmeraldAmp® MAX(35页)



随机挑取小鼠肝脏来源cDNA文库(载体pUC19克隆体)转化的大肠杆菌,使用EmeraldAmp MAX PCR Master Mix(Code No. RR320A)和载体引物进行菌落PCR,确认插入片段的大小。



被检测的20个克隆已确认都含有0.2-5 kb的插入片段。

PCR应用例

用于碱基序列分析

通过PCR技术,能够扩增特定的基因区域。纯化该扩增产物后,也可以直接进行序列分析。

<适用于PCR产物直接进行序列分析的PCR酶>

✓ 扩增效率高 *TaKaRa Ex Taq[®]* (21页)

推荐!

用于下一代测序

下一代测序(NGS)中,PCR也是一项重要的技术。常用于扩增特定区域的扩增子序列及文库扩增等。尤其是扩增长链的PrimeSTAR GXL、扩增偏好性低的Gflex、以及没有细菌来源DNA混入的low DNA酶,扩增效果都很好。

<NGS工作流程>



适用于16S菌群分析

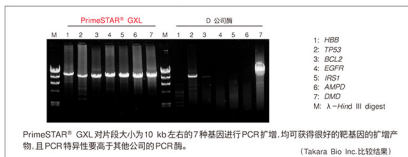
TaKaRa Taq[™] HS Low DNA (28页)

可进行单细胞扩增

Tks Gflex[™] DNA Polymerase Low DNA (12页)

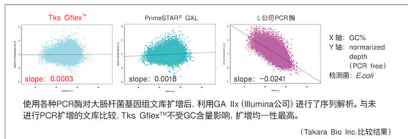
高保真扩增长链DNA&高覆盖率

PrimeSTAR[®] GXL DNA Polymerase (16页)



文库制作无扩增偏好性

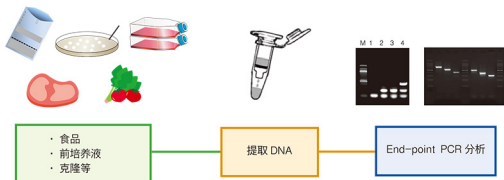
Tks Gflex[™] DNA Polymerase (10页)



PCR 应用例

应用于基因检测、感染症检测、食品检测

流程图



*Takara Bio 销售食品检测、感染症检测、基因检测用 kit。
详见网站→产品选择指南→应用检测

<检测用PCR酶>

- ✓ 阻害物质耐受性高。可直接进行 PCR **MightyAmp™** (30页)
- ✓ 可扩增多个 DNA 片段 **Multiplex PCR Assay Kit Ver. 2** (40页)
- ✓ 防止假阳性 **TaKaRa Taq™ HS PCR Kit, UNG plus** (39页)

推荐!

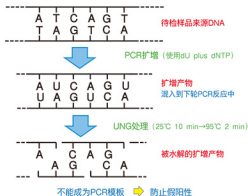
防止 PCR carryover 造成的假阳性

PCR是灵敏度很高的检出方法，很容易出现以往PCR扩增产物交叉污染导致的假阳性。对于End-Point PCR，尤其是食品、环境监测等反复进行相同PCR的实验风险更高，很容易对结果产生重大影响。

使用dUTP替代dTTP进行PCR。在进行PCR反应前先用UNG酶(Uracil-N-glycosylase)处理，从而消除之前的扩增产物。通过分解这些混入的扩增产物使其不能作为模板。

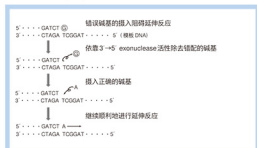
类似这样的防控机构推荐使用

TaKaRa Taq™ HS PCR Kit, UNG plus (39页)



Takara引以自傲的PCR技术介绍

■ LA PCR技术



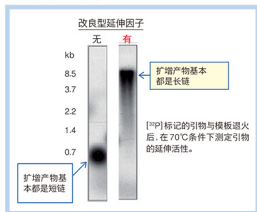
Pol I 型酶 (Taq Polymerase) 不具有校正活性, 不能将错配的碱基除去。

Pol I 型酶与具有 3'→5' exonuclease 活性 (校正活性) α 型酶混合后, α 型酶可将 Pol I 型酶插入的错配碱基瞬间除去后再开始合成 DNA, 因此提高了反应效率, 可进行长链扩增。

采用了 LA PCR 技术的代表性 PCR 酶

- TaKaRa Ex Taq[®] (21 页)
- TaKaRa LA Taq[®] (23 页)
- EmeraldAmp[®] MAX PCR Master Mix (35 页)

■ 改良型延伸因子



Takara 对嗜热性古细菌的 DNA 复制的各构成成分进行克隆后, 并成功地进行了再构建。在 DNA 的合成中有着重要性的延伸因子可显著提高 DNA 合成速度, 是实现高保真、快速 DNA 复制的关键。

本公司对在生物体内具有功能的延伸因子进行了改良, 改良后的延伸因子可用于 PCR 反应体系, 诞生了具有优良延伸性的 PCR 酶。

采用了改良型延伸因子的代表性 PCR 酶

- Tks Gflex[™] DNA Polymerase (10 页)
- PrimeSTAR[®] GXL DNA Polymerase (16 页)
- PrimeSTAR[®] Max DNA Polymerase (18 页)

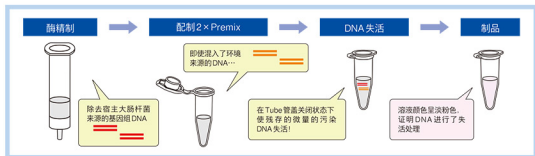
■ 特别的提取技术和 DNA 失活技术

随着 PCR 酶反应性能的提高, 宿主大肠杆菌来源 DNA 及环境来源 DNA 对 PCR 酶非常微弱的污染可导致假阳性及无模板 (No Template Control) 的扩增。特别是在微量检测样品的菌群解析及单细胞的 PCR 扩增等需要高准确度解析的实验体系, 如果出现背景会对结果分析产生很大的影响。

为了满足高纯度、高灵敏度的 PCR 酶这一需求开发了 Low DNA 系列产品。

PCR 酶 [Low DNA] 系列

- TaKaRa Taq[™] HS Low DNA (28 页)
- Tks Gflex[™] DNA Polymerase Low DNA (12 页)



多功能酶

高成功率！适用于各种情况的理想PCR酶

Tks Gflex™ DNA Polymerase

使用其它酶难以扩增的目的基因

采用特别的延伸因子和新成分，使PCR扩增兼具高速性和高特异性！

GC rich 或 AT rich 的目的基因

GC或AT含量超过70%的目的基因、碱基分布不均也可以很好地扩增！

宽广范围的模板量

不仅可以检出微量DNA，cDNA模板量多时也可以有效扩增。

粗提样品

反应缓冲液中含有PCR反应的阻害物吸收成分和扩增增强因子，大大提升了PCR扩增效率！

同时也推出了高品质的Low DNA型PCR酶

Tks Gflex™ DNA Polymerase Low DNA

兼具RTase&DNA Polymerase活性的PCR酶

TaKaRa Tth / TaKaRa Tth Hot Start Version

Tks Gflex™ DNA Polymerase

高成功率

难以扩增的序列

粗提样品

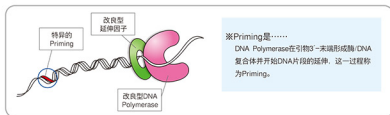
Tks Gflex™ DNA Polymerase是在 *Thermococcus* 属古细菌来源的DNA Polymerase的基础上改良的PCR聚合酶。可以有效地抑制非特异性扩增。与特别开发的改良型延伸因子结合。PrimeSTAR®系列酶也采用本公司特别研发的延伸因子。大大提高了延伸性及反应速度。

并且在反应体系中添加了新开发的、能提高Priming特异性的物质，实现了核酸样品在宽广浓度范围内的特异性扩增。

对粗提样品、GC rich或AT rich、长链等难以扩增的序列也可实现特异性的扩增，大幅提高了PCR的成功率。

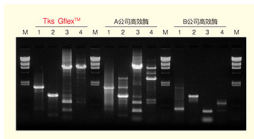
【扩增片段的标准】

λ DNA : ~40 kb
Human genome DNA : ~30 kb



难以扩增的目的基因反应性能的比较

使用Tks Gflex™酶和其它公司的酶扩增难以扩增的目的基因。比较其结果显示。使用Tks Gflex™能得到很好的扩增产物。并且其特异性都高于其它公司的酶。



目的基因: Lane 1: Mouse *Sdf1a* 1.8 kb
Lane 2: *B. subtilis AprE* 1.1 kb
Lane 3: pRetroX-G1-Red 7.2 kb
Lane 4: pBeloBAC11 7.5 kb
M: λ-Hind III digest

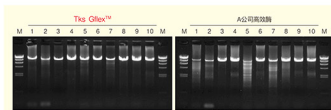
反应液组成及PCR反应条件: 各酶的推荐条件

Tks Gflex™的PCR条件:		3 8 4:	
94°C	1 min	94°C	1 min
↓		↓	
98°C	10 sec	98°C	10 sec
60°C	15 sec	68°C	30 sec/kb
68°C	30 sec/kb		
} 30 Cycles		} 30 Cycles	

(Takara Bio Inc比较结果)

扩增成功率的比较

以人基因组DNA为模板。对涵盖了不同基因的目的片段(约10 kb)，按照各酶推荐的条件进行扩增。比较其扩增成功率。Tks Gflex™ DNA Polymerase对于10种目的基因都有扩增。能得到比其他公司特异性更高的结果。



模板: 人基因组DNA (100 ng/50 μl反应体系)

目的基因:

Lane 1: *FBF1* 5: *TFRC* 9: *AMPD*
Lane 2: *TGFB1* 6: *EGFR* 10: *DMD*
3: *TP53* 7: *FGFR*
4: *BCL2* 8: *IRS1*

M: λ-Hind III digest

反应液组成及PCR反应条件: 各酶的推荐条件

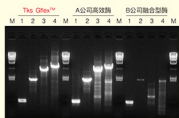
Tks Gflex™的PCR条件:	
94°C	1 min
↓	
98°C	10 sec
68°C	5 min
} 30 Cycles	

(Takara Bio Inc比较结果)

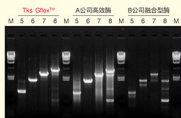
GC rich或AT rich的目的基因反应性比较

极端的GC rich或AT rich区域,容易产生非特异性的扩增。Tks Gflex™反应 Buffer中添加了提高特异性priming的物质,使目的基因可实现低背景、高特异性的扩增。

【GC rich的目的基因】



【AT rich的目的基因】



模板: Tsh genomic DNA

扩增片段大小:

- Lane 1: 05 kb (GC 72%)
- 2: 2 kb (GC 74%)
- 3: 4 kb (GC 73%)
- 4: 5 kb (GC 73%)

模板: 人基因组DNA

扩增片段大小:

- Lane 5: 1 kb (AT 65%)
- 6: 2 kb (AT 64%)
- 7: 3 kb (AT 62%)
- 8: 4 kb (AT 60%)
- M: λ -Hind III digest

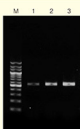
反应液组成及PCR反应条件: 各酶的推荐条件

Tks Gflex™的PCR条件:				
GC rich	94°C	1 min		
	↓			
98°C	10 sec	} 30 Cycles	AT rich	
68°C	30 sec/kb		94°C	1 min
			↓	
			98°C	10 sec
			60°C	15 sec
			68°C	30 sec/kb
				} 30 Cycles

(Takara Bio Inc比较结果)

粗提样品的扩增

(A) 动物组织粗提裂解液的扩增

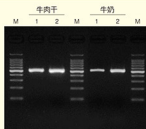


样品: 小鼠尾2 mm
目的基因: mouse Payer 2 (1.1 kb)
模板量(粗提裂解液量/25 µl反应液):
Lane 1: 0.4 µl
2: 1.0 µl
3: 2.5 µl
M: 200 bp DNA Ladder

PCR条件(实验例A,B):

94°C	1 min	} 30 Cycles
↓		
98°C	10 sec	
60°C	15 sec	
68°C	30 sec/kb	

(B) 加工食品粗提裂解液的扩增



样品:
牛肉干 20 mg²
牛奶 20 µl

目的基因:
牛线粒体 DNA_{coxI} (0.5 kb)

模板量

(粗提裂解液量/20 µl反应液):
Lane 1: 0.4 µl
2: 2.0 µl
M: 100 bp DNA Ladder

【注】粗提样品将延伸时间设定为1 min/kb。

粗提裂解液制备推荐以下试剂:

制品名称	Code No.	包装量
Lysis Buffer for PCR	9170A	20 ml
MightyPrep reagent for DNA	9182S	2 ml
	9182	20 ml

【制品一览表】

制品名称	Code No.	包装量
Tks Gflex™ DNA Polymerase	R060Q	50 U
	R060A	250 U
	R060B (A×4)	1,000 U

Tks Gflex™ DNA Polymerase Low DNA

Low DNA 型

特异性扩增

【扩增片段的标准】

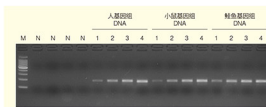
λ DNA: ~30 kb
Human genome DNA: ~20 kb

Tks Gflex™ DNA Polymerase Low DNA 利用Takara特别开发的精制技术和DNA失活技术，可很好地抑制有可能作为PCR模板的试剂中含有的宿主大肠杆菌来源DNA及环境中混入的DNA，是一种预混型PCR酶。

本酶在具有高PCR扩增成功率的Tks Gflex™ DNA Polymerase的基础上改良后，可对微量模板进行低背景的、特异性的、高灵敏度的PCR扩增。

适用于难以扩增的环境样品中的宏基因组 (Metagenomics) 的扩增、单细胞的PCR扩增、无扩增偏好性的文库制作等高难度、高准确性的PCR解析。

■ 检测灵敏度高



结果：即使分别以相当于1个细胞的人、小鼠、鲑鱼的基因组DNA为模板，也可获得良好的扩增结果。

表明可对普通PCR酶扩增的单细胞进行PCR扩增。

目的基因：18S rDNA 保守区
扩增片段大小：179 bp
推荐的PCR反应条件：3 step PCR

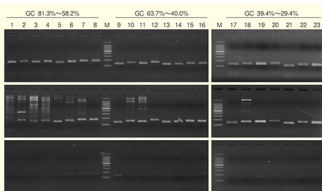
Lane N: No template
1: 1 cell 相当
2: 10 cells 相当
3: 10² cells 相当
4: 10³ cells 相当
M: 100 bp DNA Ladder

■ 高特异性和反应成功率

Tks Gflex™
DNA Polymerase
Low DNA

K公司高效酶

H公司Low DNA酶



模板：人基因组DNA 2 ng / 20 μl 反应体系
目的基因：23种基因(GC含量 29.4~81.3%)
扩增片段大小：131~177 bp
各公司推荐的条件：3 step PCR
M: 100 bp DNA Ladder

Tks Gflex™ DNA Polymerase Low DNA 对含有难以扩增的 AT rich 或 GC rich 的所有目的基因都可获得单一的扩增产物，同其他公司相比，可获得高特异性的扩增结果。

(Takara Bio Inc 比较结果)

【制品一览表】

制品名称	Code No.	包装量
Tks Gflex™ DNA Polymerase Low DNA	R091S	20 μl 反应 × 20 次
	R091A	20 μl 反应 × 100 次

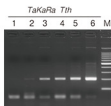
TaKaRa Tth/TaKaRa Tth Hot Start Version

Tth DNA polymerase是把 *Thermus thermophilus* HB-8 DNA Polymerase的基因经过克隆转化到大肠杆菌中进行表达后，分离提取而得到的。它与天然Tth DNA聚合酶具有相同的功能。

本酶具备一般的耐热性DNA聚合酶特性。无3'→5' DNA外切酶活性。且在Mn²⁺存在的条件下，其即便在高温条件下也可以显示反转录活性。利用该特性，可用同一酶在同一管中进行反转录反应与PCR反应（1-STEP RT-PCR）。

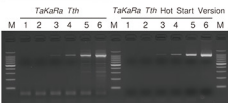
TaKaRa Tth Hot Start Version是抗Tth单克隆抗体和TaKaRa Tth的混合制品，适用于Hot Start PCR。高温加热前，抗Tth单克隆抗体与Tth酶结合，抑制其活性，从而抑制低温条件下由引物的非特异性退火或引物二聚体引起的非特异性扩增。

■ 性能：PCR扩增灵敏度



【Target】 Human GAPDH gene (200 bp)

Lane	Template
1	灭菌水
2	Human genomic DNA 10 pg
3	Human genomic DNA 100 pg
4	Human genomic DNA 1 ng
5	Human genomic DNA 10 ng
6	Human genomic DNA 100 ng



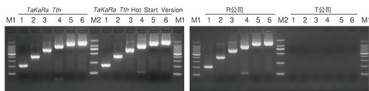
【Target】 Human DCARE1 gene (1.0 kb)

Lane	Template
1	灭菌水
2	Human genomic DNA 10 pg
3	Human genomic DNA 100 pg
4	Human genomic DNA 1 ng
5	Human genomic DNA 10 ng
6	Human genomic DNA 100 ng

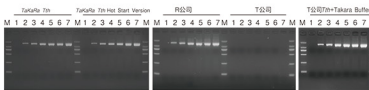
以Human genomic DNA为模板，对GAPDH gene、DCARE1 gene进行检测：

检出灵敏度可以达到100 pg，且 TaKaRa Tth Hot Start Version非特异性扩增产物少于 TaKaRa Tth。

Template: λDNA



Lane	Length (bp)
M1	100 bp DNA ladder
1	200 bp
2	400 bp
3	700 bp
4	1,000 bp
5	1,400 bp
6	1,600 bp
M2	DL2,000 DNA Marker



Lane	Template
M	DL2,000 DNA Marker
1	NTC
2	0.5 pg
3	5 pg
4	50 pg
5	500 pg
6	5 ng
7	50 ng

TaKaRa Tth/Tth HS扩增性能和R公司相当，T公司无扩增。

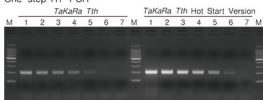
检出灵敏度上，λDNA 1.4 kb扩增，0.5 pg能够检出，T公司酶+Takara Buffer扩增OK。

(Takara Bio Inc.比较结果)

■ 性能: RT-PCR扩增(one-step & two-step RT-PCR)

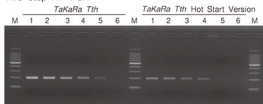
目的基因: Human B2M gene (194 bp)

One-step RT-PCR



Lane	Template
1	HL60 total RNA 1 μg
2	HL60 total RNA 100 ng
3	HL60 total RNA 10 ng
4	HL60 total RNA 1 ng
5	HL60 total RNA 100 pg
6	HL60 total RNA 10 pg
7	NTC

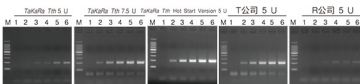
Two-step RT-PCR



Lane	Template
1	HL60 total RNA 200 ng
2	HL60 total RNA 20 ng
3	HL60 total RNA 2 ng
4	HL60 total RNA 200 pg
5	HL60 total RNA 20 pg
6	NTC

以HL60 total RNA为模板, 对human B2M gene进行检测:

TaKaRa Tth 检出灵敏度 20 pg, *TaKaRa Tth Hot Start Version* 检出灵敏度可以达到10 pg。



Lane	Template
1	NTC
2	HL60 total RNA 10 pg
3	HL60 total RNA 100 pg
4	HL60 total RNA 1 ng
5	HL60 total RNA 10 ng
6	HL60 total RNA 100 ng

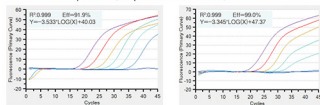
TaKaRa Tth/TaKaRa Tth Hot Start Version 扩增灵敏度与T公司相当, 优于R公司。

(Takara Bio Inc比较结果)

■ 性能: *TaKaRa Tth Hot Start Version* 进行RT-qPCR扩增

目的基因: Human GAPDH gene

Transcript RNA (template: λ DNA 4.4 kb)



GAPDH gene: HL60 total RNA: 100 ng~1 pg

Transcript RNA: 1×10^3 cps ~ 1×10^2 cps

以HL60 total RNA为模板, 使用*TaKaRa Tth Hot Start Version* 扩增, 检出灵敏度可以达到1 pg。

以Transcript RNA为模板, 使用*TaKaRa Tth Hot Start Version* 扩增, 检出灵敏度可以达到 1×10^4 copies。

【制品一览表】

制品名称	Code No.	包装量
<i>TaKaRa Tth</i>	R510A	250 U
<i>TaKaRa Tth Hot Start Version</i>	R520A	250 U

「便于操作」、「反应性能好」 的高保真 PCR 聚合酶

PrimeSTAR® 系列

PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase

PrimeSTAR® Max DNA Polymerase

PrimeSTAR® HS DNA Polymerase

PrimeSTAR® 系列的基本特点

- 错配率低，保真性高，性能卓越！ ●



错配率与所选的基因、PCR条件有密切关系

本次错配率是以GC rich、易发生碱基突变的区域为模板，采用测序的方法进行计算的

(Takara Bio Inc 比较结果)

酶	GC or AT rich 模板的扩增	延伸速度	模板添加量范围	扩增片段大小标准 (人基因组DNA)	PCR产物的末端形状	Hot Start
PrimeSTAR® HS	★★★	★★	★★	≤8.5 kb	平滑末端	○ (使用抗体)
PrimeSTAR® Max	★★★	★★★★★	★★★(★)*	≤6 kb		
PrimeSTAR® GXL	★★★★★	★★★★(★)**	★★★★★	≤30 kb		

* 当延伸时间延长至1 min/kb时，可以增加模板使用量。

** 当酶的使用量提高至2倍时，可进行延伸速度为10 sec/kb的高速PCR反应。

PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase

长链扩增

通用性高

反应速度快

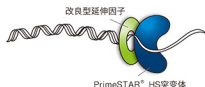
PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase 是在PrimeSTAR® HS DNA Polymerase基础上进行改良的,可抑制阻碍PCR反应的酶与模板DNA的非特异性结合,同时与本公司特别研发的改良型延伸因子组合使用,是Takara具有很好延伸性的高保真酶。

可简单地对以往高保真酶难以扩增的GC rich模板进行PCR扩增,及从低浓度cDNA中检测出低表达量的基因等。

当酶的使用量提高至2倍时,可进行延伸时间为10 sec/kb的高速PCR反应。

【扩增片段的标准】

λ DNA: ~40 kb
Human genome DNA: ~30 kb



■ 反应灵敏度和模板用量范围(同其他公司及2倍酶用量操作流程的比较)

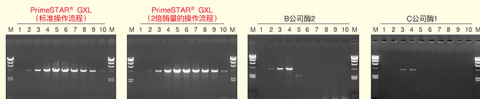
PCR扩增产物克隆时,要求扩增产物的保真性,因此经常会使用High Fidelity PCR酶。但是,通常的High Fidelity PCR酶容易受反应液中核酸量的影响,因此以cDNA为模板的扩增比较困难。

使用各公司High Fidelity PCR酶,对cDNA为模板时的模板用量进行了比较。

分别使用各公司推荐PCR反应条件进行了PCR扩增,同其他公司酶相比,PrimeSTAR® GXL可在宽广的cDNA范围内获得良好的扩增结果。

同时对PrimeSTAR® GXL的2倍酶用量操作流程(延伸时间为10 sec/kb的高速PCR)的模板用量进行了确认。

结果显示,同其他公司酶相比,PrimeSTAR® GXL可以在宽广的浓度范围内对cDNA进行良好的扩增。同时将PrimeSTAR® GXL的酶量提高至2倍使用时,模板的适用范围变得更加宽广。



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

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

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

95°C 1 min
95°C 20 sec
60°C 20 sec } 30 Cycles
72°C 2 min
72°C 3 min

目的基因: TFCF 4 kb

模板: HL60细胞来源的 Total RNA 反转录后获得的 cDNA

模板用量: cDNA (相当于Total RNA量) 50 μl 反应体系

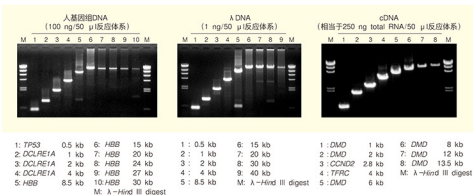
Lane 1: 25 pg	4: 25 ng	7: 750 ng	10: 2 μg
2: 250 pg	5: 250 ng	8: 1 μg	M: λ-Hind III digest (250 ng/Lane)
3: 2.5 ng	6: 500 ng	9: 1.5 μg	

(Takara Bio Inc比较结果)

■ 长片段靶基因的扩增

评价PCR聚合酶的反应性能时，能够扩增长度的DNA是一个重要的项目。下面是以各种DNA为模板，使用PrimeSTAR® GXL对长片段靶基因的扩增进行了确认。

结果显示，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对各种靶基因都有良好的延伸性。

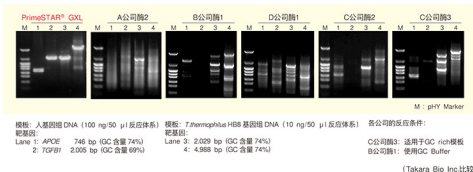


■ 扩增GC rich靶基因的反应性 (同其他公司High Fidelity PCR酶进行比较)

靶基因富含GC序列时，经常会导致PCR扩增难以进行。下面是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，对其反应性能进行了比较。

以人基因组DNA和*T.thermophilus* HBB基因组DNA为模板，对扩增区域GC含量为70%左右的4种GC rich模板分别使用PrimeSTAR® GXL与其他公司High Fidelity PCR酶，反应液的配制及PCR反应条件按照各自推荐的操作流程进行了PCR扩增。

结果显示，PrimeSTAR® GXL对GC rich模板可进行高效率的扩增，同时也显示出非常高的反应特异性。



[制品一览表]

制品名称	Code No.	包装量
PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase	R050Q	50 μ l 反应 \times 40 次
	R050A	50 μ l 反应 \times 200 次
	R050B (A \times 4)	50 μ l 反应 \times 800 次
	R051S	50 μ l 反应 \times 40 次
PrimeSTAR® GXL Premix	R051A	50 μ l 反应 \times 200 次
	R051B (A \times 4)	50 μ l 反应 \times 800 次

PrimeSTAR[®] Max DNA Polymerase

反应速度快

保真性高

操作简便

PrimeSTAR[®] Max DNA Polymerase是兼具快速延伸性和高保真性的DNA聚合酶。利用酶自身的高priming效率和特别添加的延伸因子，可大幅缩短退火时间和延伸时间，实现了高速PCR反应。同时是PrimeSTAR[®]系列产品中保真性最高的DNA聚合酶。

【扩增片段的标准】

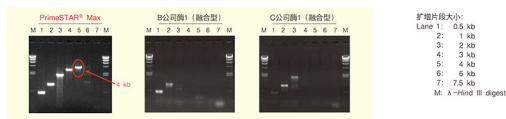
λ DNA: ~15 kb

Human genome DNA: ~6 kb

■ 快速PCR反应的扩增效率

使用各公司的Fidelity PCR酶对快速PCR反应的扩增效率进行了比较。

以人基因组DNA为模板，进行延伸时间为10 sec的快速PCR反应。对0.5~7.5 kb的DNA片段进行扩增比较。结果显示，PrimeSTAR[®] Max的扩增性高于其他公司的酶，可良好地扩增4 kb的DNA片段。

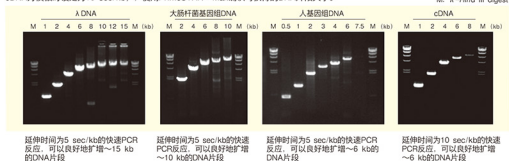


模板：人基因组DNA 100 ng/50 μl反应体系 PCR反应条件：3 step, 延伸时间10 sec, 30 Cycles

(Takara Bio Inc.比较结果)

■ 使用各种模板可获得的DNA片段大小(快速PCR反应)

以λ DNA、大肠杆菌基因组DNA、人基因组DNA及cDNA为模板，退火时间设定为5 sec或者15 sec，延伸时间设定为5 sec/kb（以cDNA为模板时设定为10 sec/kb），使用PrimeSTAR[®] Max确认可获得的DNA片段大小。



延伸时间为5 sec/kb的快速PCR反应，可以良好地扩增~15 kb的DNA片段

延伸时间为5 sec/kb的快速PCR反应，可以良好地扩增~10 kb的DNA片段

延伸时间为5 sec/kb的快速PCR反应，可以良好地扩增~6 kb的DNA片段

延伸时间为10 sec/kb的快速PCR反应，可以良好地扩增~6 kb的DNA片段

【制品一览表】

制品名称	Code No.	包装量
PrimeSTAR [®] Max DNA Polymerase	50 μl 反应 × 25 次	R045Q
	50 μl 反应 × 100 次	R045A
	50 μl 反应 × 400 次	R045B (A×4)

PrimeSTAR® HS DNA Polymerase

强校正能力

高Priming效率

经济性

PrimeSTAR® HS DNA Polymerase是兼具高保真性和高于rTaq DNA Polymerase扩增效率的High Fidelity PCR用DNA聚合酶。制品中添加了在常温状态下能够抑制DNA Polymerase活性及3'→5' Exonuclease活性的抗体, 可进行高灵敏度、高特异性PCR反应。

【扩增片段的标准】

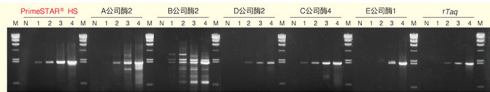
λ DNA: ~28 kb
Human genome DNA: ~8.5 kb

※ Priming效率

DNA Polymerase在引物的3'-末端形成酶/DNA复合物并开始DNA片段的延伸, 这一过程称为Priming。任何一种PrimeSTAR®系列的聚合酶都具有高Priming效率。因此, 在5~15秒短延长时间即可获得高特异性扩增产物。

■ PrimeSTAR® HS和各公司High Fidelity PCR酶扩增效率的比较

以人基因组DNA为模板, 分别使用PrimeSTAR® HS和各公司高保真PCR及rTaq, 在各自的推荐条件下对PCR扩增效率进行了比较。结果显示, PrimeSTAR® HS同其他公司High Fidelity PCR酶相比, 即使在模板量非常少的情况下也能高效率地扩增。



模板: 人基因组 DNA

靶基因: DCCLRE1A 基因 (2 kb)

反应液的配制及 PCR 反应条件: 使用各公司推荐的操作规程

PrimeSTAR® HS 的反应条件: 98°C 10 sec
55°C 5 sec
72°C 2 min } 30 Cycles

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)

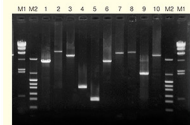
■ 在同一反应条件下使用PrimeSTAR® HS对各种片段大小不同的靶基因进行PCR扩增

使用PrimeSTAR® HS在同一PCR反应条件下对各种片段大小不同的靶基因进行了PCR扩增反应。结果显示, PrimeSTAR® HS对0.5~8.5 kb的靶基因都可高效率地进行扩增。

反应条件:
98°C 10 sec
68°C 8 min } 30 Cycles

靶基因:

Lane 1: DCCLRE1A 4 kb
2: β-globin 8.5 kb
3: β-globin 6 kb
4: DCCLRE1A 1 kb
5: TP53 0.5 kb
6: TP53 4 kb
7: HBB 7.5 kb
8: DCCLRE1A 8 kb
9: DCCLRE1A 2 kb
10: TP53 6 kb
M1: λ-Hind III digest
M2: pHY Marker



【制品一览表】

制品名称	Code No.	包装量
PrimeSTAR® HS DNA Polymerase	R010Q	50 U
	R010A	250 U
	R010B (A×4)	1,000 U
PrimeSTAR® HS (Premix)	R040Q	50 μl 反应 × 40 次
	R040A	50 μl 反应 × 100 次
	R044Q	125 U
PrimeSTAR® HS DNA Polymerase with GC Buffer	R044A	250 U
	R044B (A×4)	1,000 U

倍受欢迎的PCR基本酶

Taq 酶系列及其相关制品

TaKaRa Ex Taq®

TaKaRa LA Taq®

SpeedSTAR™ HS DNA Polymerase

TaKaRa Taq™

TaKaRa Taq™ HS Perfect Mix

TaKaRa Taq™ HS Low DNA



TaKaRa Ex Taq[®] Hot Start Version

TaKaRa Ex Taq[®]

灵敏度

扩增量

通用性

TaKaRa Ex Taq[®]是一种具有高灵敏度、高扩增量及高通用性的PCR酶。尤其在模板量非常少的情况下或含有杂质的反应体系中能够发挥强大威力。有时使用Taq DNA Polymerase不能扩增的DNA片段，使用TaKaRa Ex Taq[®]则可以扩增。Hot Start Version是添加抗Taq抗体的Hot Start PCR酶，无需改变循环条件，便可进行高灵敏度、高特异性的PCR扩增。

【扩增片段的标准】

λ DNA:~30 kb

Human genome DNA:~20 kb

2020年TaKaRa Ex Taq[®]迎来了销售26周年

Takara的主打基本PCR酶TaKaRa Ex Taq[®]自1994年开始销售以来，2020年迎来了销售26周年。采用LA-PCR技术，对以往使用Taq DNA polymerase难以扩增的长链DNA可进行PCR扩增并实现了保真性。本酶自销售以来，因其具有的高灵敏度和高扩增效率，深受广大研究人员的喜爱，今后也将作为经典PCR酶继续活跃于PCR领域。

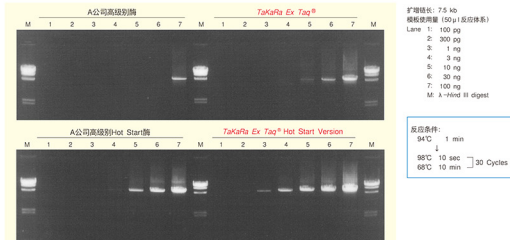


也可以参考网站中视频That's Good Science!™系列中的「Stem Cell」

与其他公司高级别PCR酶的扩增效率比较

1) 以人基因组DNA为模板，改变模板量进行PCR扩增

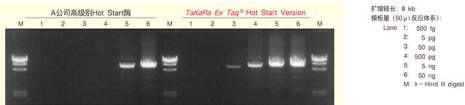
以人基因组DNA为模板，与其他公司高级别PCR酶的扩增性能进行了比较。结果显示，TaKaRa Ex Taq[®]和TaKaRa Ex Taq[®] Hot Start Version高出1个数量级的灵敏度。



(Takara Bio Inc比较结果)

2) 以大肠杆菌基因组 DNA 为模板, 改变模板量进行 PCR 扩增

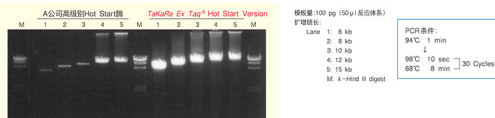
以大肠杆菌基因组 DNA 为模板, 与其他公司高级别 PCR 酶的扩增性能进行了比较。结果显示, TaKaRa Ex Taq® Hot Start Version 显示出高出 2 个数量级的灵敏度。



(Takara Bio Inc 比较结果)

3) 以 λ DNA 为模板, 扩增不同大小的片段

以 λ DNA 为模板, 与其他公司高级别 PCR 酶的扩增性能进行了比较。结果显示, TaKaRa Ex Taq® Hot start Version 可获得高灵敏度、高收量的扩增。



(Takara Bio Inc 比较结果)

【制品一览表】

制品名称	Code No.	包装量
TaKaRa Ex Taq® Hot Start Version	RR006Q/A/B (A×4)	50 U/250 U/1,000 U
TaKaRa Ex Taq®	RR001Q/A/B	50 U/250 U/1,000 U
	RR001C (B×3)	3,000 U
	RR53A	250 U
TaKaRa Ex Taq® (Mg ²⁺ free Buffer)	RR53AM	250 U
	RR01AM	250 U
	RR01BM (AM×4)	1,000 U
	RR01CM (AM×12)	3,000 U
Premix Ex Taq™ Hot Start Version	RR030Q/A	50 µl 反应 × 40 次/100 次
Premix Taq™ (Ex Taq™ Version 2.0)	RR003Q/A	50 µl 反应 × 40 次/120 次
Premix Taq™ (Ex Taq™ Version 2.0 plus dye)	RR902Q/A	50 µl 反应 × 40 次/120 次
10 × Ex Taq Buffer (Mg ²⁺ plus)	9152A	1 ml × 10 支
10 × Ex Taq Buffer (Mg ²⁺ free)	9152AM	1 ml × 10 支

TaKaRa LA Taq[®] Hot Start Version
 TaKaRa LA Taq[®]
 TaKaRa LA Taq[®] with GC Buffer

长链扩增

扩增量

GC rich 序列[※]

TaKaRa LA Taq[®] 是适用于扩增长链DNA的PCR酶。尤其在扩增15 kb以上的DNA片段时特别有效。当扩增富含GC序列等复杂二级结构的模板时，用 TaKaRa LA Taq[®] with GC Buffer进行PCR扩增非常有效。Hot Start Version是添加抗Taq抗体的Hot Start PCR酶，在不改变循环条件的情况下，可进行高灵敏度、高特异性的PCR扩增。

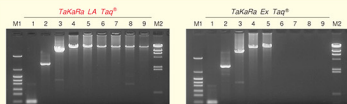
仅限24页下方带※制品

【扩增片段的标准】
 λ DNA: ~40 kb
 Human genome DNA: ~30 kb

■ 对于不同长度的目的基因，TaKaRa LA Taq[®]、TaKaRa Ex Taq[®] 的扩增效率比较

1) 以人基因组DNA为模板进行扩增

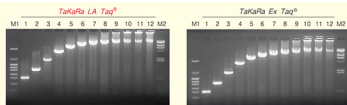
TaKaRa LA Taq[®] 可扩增 30 kb 的片段，TaKaRa Ex Taq[®] 可扩增 23 kb 的片段。



扩增链长：
 Lane 1: 0.262 kb
 2: 2.9 kb
 3: 8.5 kb
 4: 17.5 kb
 5: 23.2 kb
 6: 27 kb
 7: 28.4 kb
 8: 29.9 kb
 9: 30.8 kb
 M1: pHY Marker
 M2: λ-Hind III digest

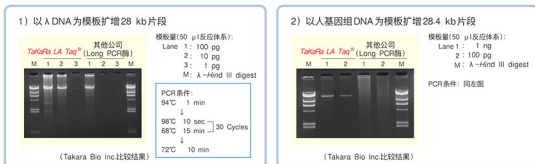
2) 以λ DNA为模板进行扩增

TaKaRa LA Taq[®] 可很好地扩增 35 kb 的片段。



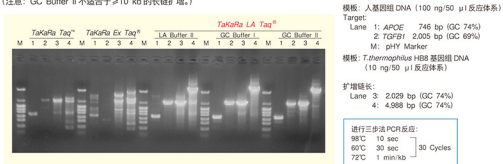
扩增链长：
 Lane 1: 0.5 kb
 2: 1 kb
 3: 2 kb
 4: 4 kb
 5: 6 kb
 6: 8 kb
 7: 10 kb
 8: 12 kb
 9: 15 kb
 10: 20 kb
 11: 28 kb
 12: 35 kb
 M1: pHY Marker
 M2: λ-Hind III digest

■ TaKaRa LA Taq® 与其他公司 Long PCR 酶的扩增效率比较



■ Taq 酶系列产品扩增 GC rich 目的基因的比较

使用 Taq 系列的各 PCR 酶扩增 GC rich 目的基因并进行比较。结果显示, TaKaRa LA Taq® 配合 GC Buffer 使用时可以得到高特异性的扩增。(注意: GC Buffer II 不适用于 ≥10 kb 的长链扩增。)



【制品一览表】

制品名称	Code No.	包装量
TaKaRa LA Taq® Hot Start Version	RR042Q/A/B (A×4)	50 U/125 U/500 U
TaKaRa LA Taq®	RR02MQ/MA/MB (A×4)	50 U/125 U/500 U
	RR52A	125 U
TaKaRa LA Taq® (Mg ²⁺ free Buffer)	RR002A/B (A×4)	125 U/500 U
	RR52AM	125 U
TaKaRa LA Taq® with GC Buffer®	RR02AG/BG (AG×4)	125 U/500 U
	RR52AG	125 U
Premix Taq™ (LA Taq™ Version 2.0)	RR900A	50 μl 反应 × 60 次
Premix Taq™ (LA Taq™ Version 2.0 plus dye)	RR903A	50 μl 反应 × 60 次
10 × LA Taq Buffer II (Mg ²⁺ plus)	9153A	1 ml × 10 支
10 × LA Taq Buffer II (Mg ²⁺ free)	9153AM	1 ml × 10 支
2 × GC Buffer I	9154	1.25 ml × 10 支
2 × GC Buffer II	9155	1.25 ml × 10 支

SpeedSTAR™ HS DNA Polymerase

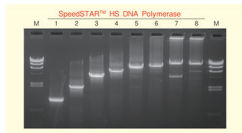
快速PCR

【扩增片段的标准】

λ DNA: ~20 kb
Human genome DNA: ~17.5 kb

SpeedSTAR™ HS DNA Polymerase是Takara特别开发的一种具有高反应性能的快速PCR扩增用酶，与附带的Fast Buffer结合使用，同普通PCR相比，各步的设定时间都变短，因此能大大缩短总的反应时间。根据目的基因的片段长度配有两种Buffer，2 kb以内片段扩增时使用Buffer I；2~4 kb片段扩增时使用Buffer I或Buffer II；4 kb以上片段扩增时使用Buffer II。

■ 反应时间的比较: SpeedSTAR™ HS DNA Polymerase vs. TaKaRa Ex Taq® Hot Start Version



模板: 大肠杆菌基因组DNA

扩增链长:

Lane
1: 1 kb
2: 2 kb
3: 4 kb
4: 6 kb
5: 8 kb
6: 10 kb
7: 18 kb
8: 20 kb
M: λ-Hind III digest

Thermal Cycler Dice
Gradient (Program Mode 5)

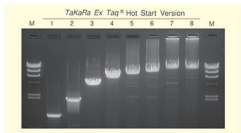
PCR条件:

• 1 kb, 2 kb的PCR扩增
94°C 1 min
↓
95°C 5 sec } 30 Cycles
65°C 20 sec }
反应时间: **19:35:39**

• 4 kb, 6 kb的PCR扩增
94°C 1 min
↓
95°C 5 sec } 30 Cycles
65°C 60 sec }
反应时间: **19:53:39**

• 8 kb, 10 kb的PCR扩增
94°C 1 min
↓
98°C 5 sec } 30 Cycles
68°C 2 min }
反应时间: **19:48:39**

• 18 kb, 20 kb的PCR扩增
94°C 1 min
↓
98°C 5 sec } 30 Cycles
68°C 5 min }
72°C 5 min
反应时间: **19:34:29:39**



模板: 大肠杆菌基因组DNA

扩增链长:

Lane
1: 1 kb
2: 2 kb
3: 4 kb
4: 6 kb
5: 8 kb
6: 10 kb
7: 18 kb
8: 20 kb
M: λ-Hind III digest

Thermal Cycler Dice
Gradient (Program Mode 1)

PCR条件:

• 1 kb, 2 kb的PCR扩增
94°C 1 min
↓
94°C 10 sec } 30 Cycles
68°C 2 min }
反应时间: **19:53:39**

• 4 kb, 6 kb的PCR扩增
94°C 1 min
↓
98°C 10 sec } 30 Cycles
68°C 6 min }
72°C 10 min
反应时间: **19:30:39:45:39**

• 8 kb, 10 kb的PCR扩增
94°C 1 min
↓
98°C 10 sec } 30 Cycles
68°C 10 min }
72°C 10 min
反应时间: **19:30:39:45:39**

• 18 kb, 20 kb的PCR扩增
94°C 1 min
↓
98°C 10 sec } 30 Cycles
68°C 15 min }
72°C 5 min
反应时间: **19:30:39:15:39**

【制品一览表】

制品名称	Code No.	包装量
SpeedSTAR™ HS DNA Polymerase	RR070Q	50 U
	RR070A	250 U
	RR070B (A×4)	1,000 U

TaKaRa Taq™ Hot Start Version

TaKaRa Taq™

基础酶

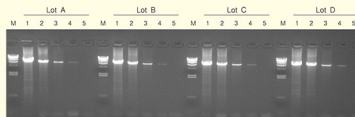
【扩增片段的标准】

λ DNA: ~12 kb

Human genome DNA: ~3 kb

TaKaRa Taq™ 是基础酶，一般 1 kb 以下片段的扩增与 TaKaRa Ex Taq®、TaKaRa LA Taq® 一样能得到很好的扩增，批次间也没有反应性能差异，可以放心使用。Hot Start Version 是添加抗 Taq 抗体的 Hot Start PCR 酶，可以实现高特异性的 PCR 扩增。

多批次间反应性能的比较



模板: λ DNA
 扩增链长: 8 kb
 模板量 (50 μl 反应体系):
 Lane 1: 1 ng
 2: 100 pg
 3: 10 pg
 4: 1 pg
 5: Negative Control
 M: λ-Hind III digest

PCR 条件:
 94°C 30 sec } 30 Cycles
 65°C 10 min }

【制品一览表】

制品名称	Code No.	包装量
TaKaRa Taq™ Hot Start Version	R007Q/A/B (A×4)	50 U/250 U/1,000 U
	R007Z	10,000 U
TaKaRa Taq™	R001A/B	250 U/1,000 U
	R001C (B×3)	3,000 U
	R500A/Z	250 U/10,000 U
	R001AM	250 U
TaKaRa Taq™ (Mg ²⁺ free Buffer)	R001BM (AM×4)	1,000 U
	R001CM (AM×12)	3,000 U
	R500AM	250 U
Premix Taq™ Hot Start Version	R028Q/A	50 μl 反应 × 40 次/100 次
Premix Taq™ (TaKaRa Taq™ Version 2.0)	R004Q/A	50 μl 反应 × 40 次/120 次
Premix Taq™ (TaKaRa Taq™ Version 2.0 plus dye)	RR901Q/A	50 μl 反应 × 40 次/120 次
10 × PCR Buffer (Mg ²⁺ plus)	9151A	1 ml × 10 支
10 × PCR Buffer (Mg ²⁺ free)	9151AM	1 ml × 10 支

TaKaRa Taq™ HS Perfect Mix

基础酶

快速 PCR

【扩增片段的标准】

λ DNA: ~12 kb
Human genome DNA: ~3 kb

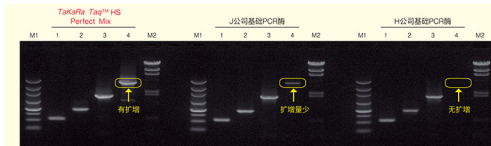
TaKaRa Taq™ HS Perfect Mix是在Taq DNA polymerase基础上改良的具有高延伸速度和高特异性的进化型基础PCR酶。延伸时间可设定为20 sec/kb, PCR反应时间仅需一般基础酶的一半以下即可获得PCR扩增结果。

反应组分为预混型并采用Hot Start法, 配制PCR反应液十分简单。

注) PCR反应要求高反应性能或高延伸性时, 请使用TaKaRa Ex Taq®或TaKaRa LA Taq®, TaKaRa Ex Taq®及TaKaRa LA Taq®使用了LA PCR技术, 扩增效率(特别是对长链DNA的扩增效率)要高于TaKaRa Taq™ HS Perfect Mix。



■ 与其他公司基础PCR酶的比较



模板: 人基因组DNA

Lane 1: DCLRE1A 500 bp

2: DCLRE1A 1 kb

3: DCLRE1A 2 kb

4: DCLRE1A 4 kb

M1: 250 bp DNA Ladder

M2: λ-Hind III digest

PCR反应使用各公司推荐PCR反应条件

TaKaRa Taq HS Perfect Mix的PCR反应条件:
94°C 5 sec
65°C 20 sec/kb 35 Cycles

【各PCR酶进行上述反应时的所需时间】

	500 bp	1 kb	2 kb	4 kb
TaKaRa Taq™ HS Perfect Mix	46分钟	51分钟	62分钟	85分钟
J公司PCR酶	110分钟	128分钟	163分钟	233分钟
H公司PCR酶	117分钟	134分钟	173分钟	242分钟

使用TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice Touch (Code No. TP350)

(Takara Bio Inc比较结果)

【制品一览表】

制品名称	Code No.	包装量
TaKaRa Taq™ HS Perfect Mix	R300S	50 μl 反应 × 20 次
	R300A	50 μl 反应 × 100 次
	R300B (A×4)	50 μl 反应 × 400 次

TaKaRa Taq™ HS Low DNA

Low DNA型

检测灵敏度高

【扩增片段的标准】

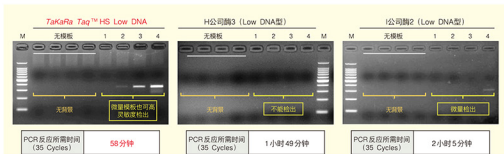
λ DNA: ~12 kb
Human genome DNA: ~3 kb

TaKaRa Taq™ HS Low DNA利用Takara特别开发的精制技术和DNA失活技术，可非常好地抑制试剂中含有的宿主大肠杆菌来源DNA及从环境中混入的DNA。是一种预混型PCR酶。

使用了具有高延伸速度和高特异性的改良型Taq DNA polymerase，可快速地进行高灵敏度的特异性PCR扩增。

适用于微生物的高灵敏度检出、16S菌群分析，以及进行No Template Control 扩增时，出现背景对解析产生很大影响的反应体系。

快速、高灵敏度检出



Lane 1: 大肠杆菌基因组 DNA
2: 10¹ cells 相当
3: 10² cells 相当
4: 10³ cells 相当
M: 100 bp DNA Ladder

目的基因: 大肠杆菌16S rDNA 348 bp
PCR反应: 使用Thermal Cycler Dice Gradient (Code No. TP600)

TaKaRa Taq™ HS Low DNA 在进行无模板的PCR反应时，可完全抑制背景。同其他公司相比，可在短时间内高灵敏度地检测出微量模板。

(Takara Bio Inc.比较结果)

根据实验目的和实验手法选择推荐的“Low DNA”酶！

- 对微生物进行高灵敏度检出时
- 对微量检测样品进行菌群分析时
- 想缩短PCR反应时间时
- 想使用简并引物时

TaKaRa Taq™ HS Low DNA

- 对微量基因组DNA进行高灵敏度的特异性扩增时
- 想对单细胞进行PCR扩增时
- GC rich、AT rich模板难以扩增时
- 想进行无偏好性文库扩增时

Tks Gflex™ DNA Polymerase Low DNA

(参考12页)

【制品一览表】

制品名称	Code No.	包装量
TaKaRa Taq™ HS Low DNA	R090S	20 μl 反应 × 20 次
	R090A	20 μl 反应 × 100 次

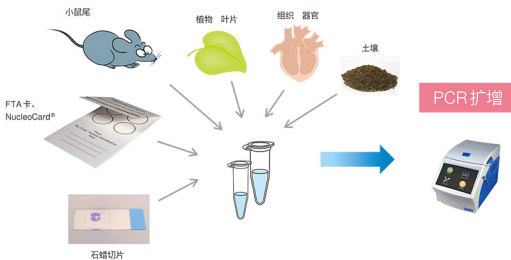
无需提取DNA、直接进行PCR!

MightyAmp™系列

MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.3

MightyAmp™ Genotyping Kit etc.

种类繁多的样品



将血液、动植物组织等生物样品直接加入到反应液中进行直接PCR

MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.3

直接PCR

粗提样品

扩增量

【扩增片段的标准】

Direct PCR: ~2 kb

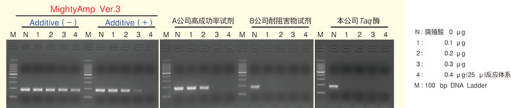
MightyAmp DNA Polymerase 是追求高反应性能开发的PCR酶。由于本酶具有很强的扩增性能，对于使用普通PCR酶难以扩增的样品，也显示出很好的扩增能力，如含有大量PCR抑制物的生体粗提样品。MightyAmp DNA Polymerase Ver.3是对MightyAmp DNA Polymerase进行了改良，与Ver.2相比，这种改良后的PCR酶和Buffer组合使用，可进一步增强对PCR抑制物的抵抗力。此外，也提高了血液、动植物组织等生物体样品直接加入到反应液中的Direct PCR的反应性能。

无论是PCR抑制物含量较多的粗提样品，还是GC Rich、AT Rich的模板均可在宽广的模板范围内进行有效扩增，并根据需要将试剂盒中附带的10× Additive for High Specificity添加到PCR反应液中可提高PCR扩增的特异性和检测灵敏度。

■ 实验例1: 高浓度腐殖酸中的PCR反应

我们已知土壤中存在的腐殖酸对PCR反应有很强的抑制作用。

本制品的耐腐殖酸性明显高于已有的PCR酶，可提高含有高浓度土壤成分粗提样品的PCR反应成功率。



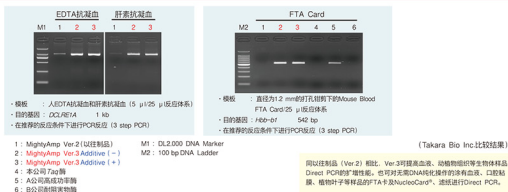
• 模板 : 大肠杆菌基因组DNA (相当于 1×10^6 copies)

• 目的基因 : 16S rDNA 173 bp · 各种酶在推荐的条件下进行PCR反应 (3 step PCR)

(Takara Bio Inc 比较结果)

已证实，除腐殖酸外，对于使用海水等高盐样品的反应体系，含有高浓度酚和儿茶素的反应体系、含黑色素和靛蓝等色素的反应体系，同已有的PCR酶相比，本制品可获得良好的扩增结果。

■ 实验例2: 血液 & FTA卡的 Direct PCR



MightyAmp™ Genotyping Kit

基因型判定

粗提样品

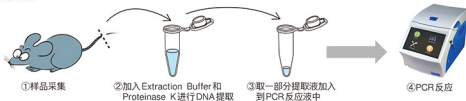
【扩增片段的标准】

粗提液：~2 kb

MightyAmp™ Genotyping Kit是一种从小鼠尾等动物组织或植物组织中简单、快速地提取DNA后直接用于PCR扩增的试剂盒。试剂盒中含有提取DNA的专用Buffer和Proteinase K,可直接从动植物组织中提取DNA。同时,为了减轻混入的杂质的影响,PCR扩增产物电泳时使用专用Loading Dye进行电泳。

可在短时间内检测出PCR扩增产物,适用于基因型判定。

操作流程

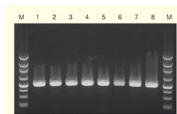


★得到的DNA提取液可进行多次实验

→ 很容易进行再解析及利用其他引物进行多部位基因型的判定

小鼠尾的DNA提取 & PCR扩增

取8只小鼠尾前端1 mm, 加入制品中附带的Extraction Buffer和Proteinase K提取DNA, 离心后取2.5 μ l上清为模板, 加入到50 μ l PCR反应体系中, 使用MightyAmp进行了PCR扩增。结果显示, 所有小鼠尾的目的基因都能得到很好的扩增结果。



目的基因:

Lane 1 ~ 8: Ywhaz 约 1 kb

M: 250 bp DNA Ladder

在4 μ l反应液中添加附带的 Loading Dye后进行电泳

PCR条件:

98°C 2 min

↓

98°C 10 sec

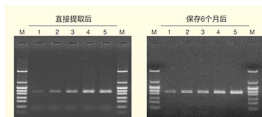
60°C 15 sec

68°C 1 min

40 Cycles

提取液冷冻保存的影响

取小鼠尾前端1.5 mm, 加入制品中附带的Extraction Buffer和Proteinase K提取DNA后, -20°C冷冻保存6个月。室温融化后的提取液加入20 μ l的PCR反应体系中, 进行小鼠Ywhaz基因的PCR扩增。以冷冻保存液为模板的目的基因也有很好的扩增效果。



目的基因: Ywhaz 约1 kb

模板(提取液)量 / 20 μ l反应体系:

Lane 1: 0.1 μ l

2: 0.2 μ l

3: 0.4 μ l

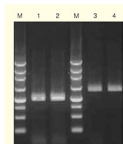
4: 0.8 μ l

5: 2.0 μ l

M: pHY Marker

■ 植物叶片和米粒的PCR扩增

用直径2 mm的打孔器取西红柿的叶片及1粒糯米，按操作方法提取DNA，离心后取一部分上清液加入到50 μl PCR反应体系中，进行西红柿 *cox1* 基因、大米 *rbcL* 基因的扩增。所有反应都得到很好的扩增效果。



模板（提取液）量：

奇数 Lane: 1 μl

偶数 Lane: 2 μl

组织样品的目的基因：

Lane 1,2 西红柿叶片 (φ2 mm)

cox1 (约1 kb)

3,4: 糯米粒 (1粒)

rbcL (约1.3 kb)

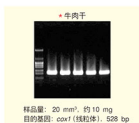
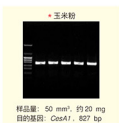
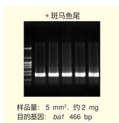
M: 250 bp DNA Ladder

PCR条件：
98℃ 2 min
↓
98℃ 10 sec
60℃ 15 sec
68℃ 1 min
40 Cycles

■ 各生体组织、加工食品的PCR扩增

取各种样品1~50 mg，加入制品中附带的Extraction Buffer和Proteinase K提取DNA，离心后取2.5 μl上清液为模板，加入到50 μl PCR反应体系，使用MightyAmp进行了PCR扩增。几种样品扩增结果示例如下，下面列表中所有样品的目的基因都能得到很好的扩增效果。

动物组织	植物组织	其他加工食品
人指甲、毛发、血液	西红柿叶片、果实	猪肉干、火腿、香肠
小鼠尾、耳朵、脏器、粪便	拟南芥叶片	牛肉干、牛奶
斑马鱼尾*	玉米叶片、玉米粉*	羊蹄肉
虾身	棉籽壳	土壤细菌



【制品一览表】

制品名称	Code No.	包装量
MightyAmp™ Genotyping Kit	R074A	200 次
	R071Q	50 U
MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.2	R071A	250 U
	R071B (A×4)	1,000 U
	R076A	250 U
MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.3	R076B (A×4)	1,000 U
	R076A	250 U
Lysis Buffer for PCR	9170A	20 ml
MightyPrep reagent for DNA	9182S	2 ml
	9182	20 ml

简单方便！可直接进行电泳
适用于常规PCR及菌落PCR

Dye Plus PCR用Premix试剂

Premix Taq™ (TaKaRa Taq™ Version 2.0 plus dye)

Premix Taq™ (Ex Taq™ Version 2.0 plus dye)

Premix Taq™ (LA Taq™ Version 2.0 plus dye)

EmeraldAmp® MAX PCR Master Mix

EmeraldAmp® PCR Master Mix

SapphireAmp® Fast PCR Master Mix

EmeraldAmp® MAX HS PCR Master Mix

EmeraldAmp® GT PCR Master Mix



Premix Taq™系列plus dye产品

本系列产品是PCR反应用的DNA Polymerase、Buffer、dNTP Mixture的2倍浓度的混合物。使用时只需在制品溶液中加入模板和引物便可以进行PCR反应，大大简化了操作过程，减少了PCR操作过程中的污染。本系列制品中已含有电泳时所必需的色素试剂(蓝色和黄色色素)，PCR反应后可以直接进行电泳。反应液为鲜艳的绿色(Emerald Green)，电泳时指示效果明显，容易观察样品的电泳位置。本系列制品扩增性能强，保存稳定性好。

使用本系列制品扩增得到的PCR产物的3'端附有一个“A”碱基，因此可直接克隆于T-Vector中。

Premix Taq™(TaKaRa Taq™ Version 2.0 plus dye)

- 以λ DNA为模板，可以很好地扩增8 kb的DNA片段
- 以人基因组DNA为模板，可以很好地扩增3 kb (p53基因)的DNA片段。

Premix Taq™(Ex Taq™ Version 2.0 plus dye)

- 以λ DNA为模板，可以很好地扩增20 kb的DNA片段
- 以人基因组DNA为模板，可以很好地扩增3 kb (p53基因)的DNA片段。

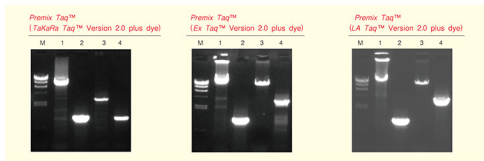
Premix Taq™(LA Taq™ Version 2.0 plus dye)

- 以λ DNA为模板，可以很好地扩增28 kb的DNA片段
- 以人基因组DNA为模板，可以很好地扩增17.5 kb (β-Globin gene)的DNA片段。



■ 实验例结果

1% Agarose gel 5 μl 电泳结果



M: λ-Hind III digest
1: λ DNA 8 kb PCR产物
2: λ DNA 1 kb PCR产物
3: Human DNA 3 kb PCR产物
4: Human DNA 1 kb PCR产物

M: λ-Hind III digest
1: λ DNA 20 kb PCR产物
2: λ DNA 1 kb PCR产物
3: Human DNA 17.5 kb PCR产物
4: Human DNA 3 kb PCR产物

M: λ-Hind III digest
1: λ DNA 28 kb PCR产物
2: λ DNA 1 kb PCR产物
3: Human DNA 17.5 kb PCR产物
4: Human DNA 3 kb PCR产物

*: Code No. 3403

【制品一览表】

制品名称	Code No.	包装量
Premix Taq™(TaKaRa Taq™ Version 2.0 plus dye)	RR901Q/A	50 μl 反应 × 40 次/120 次
Premix Taq™(Ex Taq™ Version 2.0 plus dye)	RR902Q/A	50 μl 反应 × 40 次/120 次
Premix Taq™(LA Taq™ Version 2.0 plus dye)	RR903A	50 μl 反应 × 60 次

实现了高性价比! Dye Plus PCR用Premix试剂

EmeraldAmp[®] MAX PCR Master Mix

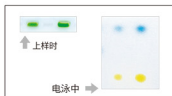
Loading Dye Plus

通用性

EmeraldAmp[®] MAX PCR Master Mix是PCR反应用各种试剂(酶、Buffer、dNTP Mixture等)的2倍浓度的预混型制品。使用本制品时,只需要在制品溶液中加入模板和引物便可进行PCR反应,简化了操作步骤。并且,本制品中已含有电泳时所需的色素试剂(蓝色和黄色色素),PCR反应后可以直接进行电泳。反应液为鲜亮的绿色(Emerald Green),电泳时指示效果明显,容易观察样品的电泳位置。

本制品使用了具有高扩增性能的DNA聚合酶和合适Buffer,也适用于长片段的扩增。以人基因组DNA为模板可以扩增15 kb的DNA片段。

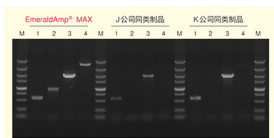
【扩增片段的标准】
菌落PCR检测插入片段: ~10 kb
Human genome DNA: ~15 kb



- 反应后可直接进行酶切处理
- 可用于TA克隆
- 4°C可保存3个月,性能稳定

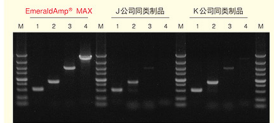
GC Rich、AT Rich基因区域的PCR 扩增比较

以人基因组DNA为模板(50 ng/25 μl反应体系),使用EmeraldAmp[®] MAX和其他公司的同类制品对GC Rich、AT Rich的目的基因进行了扩增性能的比较。结果显示,EmeraldAmp[®] MAX可对GC Rich、AT Rich的目的基因进行高特异性的扩增,且扩增性能要高于其他公司同类制品。



目的基因: GC-rich regions

Lane 1: BCL2 581 bp GC 68%
2: TGFβ1 987 bp GC 72%
3: JUN 2,025 bp GC 65%
4: TGFβ1 4,015 bp GC 63%
M: DL5,000 DNA Marker



目的基因: AT-rich regions

Lane 1: UCRchr11 539 bp GC 29%
2: UCRchr9 899 bp GC 30%
3: CYC 2,085 bp GC 37%
4: DCLRE1A 4,048 bp GC 36%
M: DL5,000 DNA Marker

• Uncoding region (染色体11、9)

※各酶按照推荐的反应条件进行PCR扩增

EmeraldAmp MAX的PCR条件:
98°C 10 sec
60°C 30 sec
72°C 1 min/kb } 30 Cycles

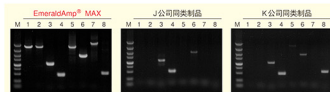
(Takara Bio Inc.比较结果)

■ 在同一条件下进行0.5~6 kb片段的扩增

以人基因组DNA为模板，使用EmeraldAmp[®] MAX及其他公司同类制品，在右边的同一-PCR反应条件下对不同片段大小的目的基因进行了PCR扩增。

结果显示：EmeraldAmp[®] MAX在同一-PCR反应条件下可扩增0.5~6 kb的DNA片段。不受扩增片段大小及GC含量的影响，在同一-PCR反应条件下均可进行PCR扩增，缩短了实验条件研讨的时间。

98°C 10 min
60°C 30 sec
72°C 6 min } 30 Cycles



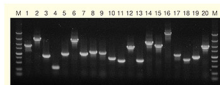
模板：人基因组 DNA (50 ng/25 μ l 反应体系)

目的基因

Lane 1: DCL	4 kb	GC 36%
2: TGF β 1	4 kb	GC 63%
3: HBB	1 kb	GC 39%
4: TP53	0.5 kb	GC 48%
5: TP53	4 kb	GC 48%
6: IGF2R	2 kb	GC 50%
7: HBB	6 kb	GC 37%
8: BCL2	0.6 kb	GC 68%
M:	DL5.000 DNA Marker	

(Takara Bio Inc.比较结果)

■ 菌落PCR确认插入片段大小



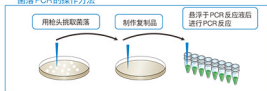
上样量：电泳液3 μ l (50 μ l 反应体系)

M: DL5.000 DNA Marker
1% Agarose L03

PCR条件：
98°C 10 sec } 30 Cycles
55°C 30 sec
72°C 2 min

将小鼠肝脏来源的cDNA文库 (pUC19载体) 进行克隆转化后，随机挑取大肠杆菌单菌落，使用载体上的引物进行PCR扩增，确认了插入片段大小。

菌落PCR的操作方法

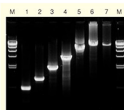


■ 人基因的扩增

以人基因组DNA为模板，使用EmeraldAmp[®] MAX和目的基因扩增用引物进行PCR扩增。结果显示可扩增0.5~24 kb的DNA片段。

PCR条件：目的基因1~4
98°C 10 sec } 30 Cycles
60°C 30 sec
72°C 1 min/kb

PCR条件：目的基因5~7
98°C 10 sec } 30 Cycles
68°C 1 min/kb



模板：人基因组 DNA

(50 ng/25 μ l 反应体系)

目的基因

1: TP53	505 bp	GC 54%
2: IGF2R	980 bp	GC 47%
3: MYC	2,030 bp	GC 49%
4: IGF2R	3,890 bp	GC 50%
5: FMRI	7,840 bp	GC 34%
6: IGF2R	14,972 bp	GC 46%
7: HBB	24,235 bp	GC 39%
M:	λ -Hind III digest (100 ng)	
	1% Agarose L03 反应液3 μ l电泳	

【制品一览表】

制品名称	Code No.	包装量
EmeraldAmp [®] MAX PCR Master Mix	RR320Q	50 μ l 反应 \times 40 次
	RR320A	50 μ l 反应 \times 160 次

EmeraldAmp[®] PCR Master Mix

SapphireAmp[®] Fast PCR Master Mix

Premix型
Loading Dye Plus

Hot Start型

快速PCR (※)

※仅限SapphireAmp

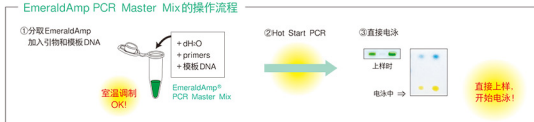
EmeraldAmp PCR Master Mix是Hot Start型的通用Dye Plus PCR用Premix试剂。可在室温下配制反应液。PCR反应易于操作。

SapphireAmp Fast PCR Master Mix是可进行快速PCR反应的Hot Start型的通用的Dye Plus PCR用Premix试剂。与普通Dye Plus的Premix试剂相比，PCR反应时间可缩短一半，对于想快速获得结果的实验特别适用。

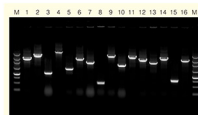
【使用EmeraldAmp时的扩增片段标准】
菌落PCR确认插入片段大小：~10 kb
Human genome DNA：~15 kb

【使用SapphireAmp时的扩增片段标准】
菌落PCR确认插入片段大小：~6 kb
Human genome DNA：~6 kb

EmeraldAmp PCR Master Mix的操作流程



■ 使用SapphireAmp Fast PCR Master Mix 进行菌落PCR



1% Agarose L03 5 μ l 反应液电泳
M: 250 bp DNA Ladder (Dye Plus)

将小鼠cDNA文库（插入了0.5~5 kb插入片段的pUC118载体）进行克隆转化后，随机挑取大肠杆菌单菌落，使用载体上的引物进行PCR扩增，确认了插入片段大小。使用SapphireAmp仅需1小时即可扩增5 kb的DNA片段。

94°C 1 min
↓
98°C 5 sec
60°C 5 sec
72°C 40 sec } 30 Cycles

仅需1小时

★进行菌落PCR反应，扩增5 kb左右片段时，延伸时间可以设定为10 sec/kb。

【制品一览表】

制品名称	Code No.	包装量
EmeraldAmp [®] PCR Master Mix	RR300Q	50 μ l 反应 \times 40 次
	RR300A	50 μ l 反应 \times 160 次
	RR300B (A \times 5)	50 μ l 反应 \times 800 次
SapphireAmp [®] Fast PCR Master Mix	RR350Q	50 μ l 反应 \times 40 次
	RR350A	50 μ l 反应 \times 160 次
	RR350B (A \times 5)	50 μ l 反应 \times 800 次
EmeraldAmp [®] MAX HS PCR Master Mix	RR330A	50 μ l 反应 \times 160 次
EmeraldAmp [®] GT PCR Master Mix	RR310Q	50 μ l 反应 \times 40 次
	RR310A	50 μ l 反应 \times 160 次

特殊用途PCR酶

TaKaRa Taq[™] HS PCR Kit, UNG plus

TaKaRa PCR Carryover Prevention Kit

Multiplex PCR Assay Kit Ver.2

TaKaRa EpiTaq[™] HS (for bisulfite-treated DNA)

防止PCR交叉污染产生的假阳性!

TaKaRa Taq™ HS PCR Kit, UNG plus TaKaRa PCR Carryover Prevention Kit

重复PCR

防止假阳性

TaKaRa Taq HS PCR Kit, UNG plus 及 TaKaRa PCR Carryover Prevention Kit 中的 dNTP 含有 dUTP, 同时还含有热敏感性的 Uracil-N-glycosylase (UNG), 在 PCR 反应前通过 UNG 作用, 能够有效防止以往扩增产物作为模板引起的扩增。TaKaRa Taq HS PCR Kit, UNG plus 包含 TaKaRa Taq HS, 可将您平常使用的 Taq 酶直接替换成本制品使用。

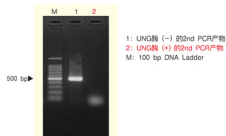
TaKaRa PCR Carryover Prevention Kit 能够有效防止正在进行的 PCR 体系的交叉污染。如果不想替换您目前使用的 PCR 酶, 请使用本制品。

***注意: 利用 UNG 时, 请使用 TaKaRa Taq™ 等 Pol I 型 PCR 聚合酶。**
因具有校正活性的 α 型 PCR 聚合酶不适用于含有尿嘧啶模板的扩增, 所以不建议使用 α 型 PCR 聚合酶或含有 α 型聚合酶的混合型酶。

■ UNG 酶的防止扩增产物污染效果

使用 TaKaRa Taq HS PCR Kit, UNG plus, 以 10 ng 人基因组 DNA 为模板, 扩增 500 bp 的 DNA 片段 (1st PCR)。再以 2 μ l 1st PCR 产物为模板进行 UNG 酶 (+) 及 UNG 酶 (-) 处理, 然后使用 1st PCR 的反应条件进行了 PCR 扩增 (2nd PCR)。

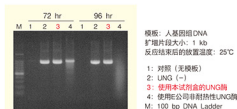
结果显示: UNG 酶 (+) 处理后 1st PCR 的扩增产物被降解, 2nd PCR 时无 PCR 扩增产物。证实了 UNG 酶对扩增产物污染的消除效果。



■ PCR 扩增产物的稳定性

TaKaRa PCR Carryover Prevention Kit 中的非耐热性 UNG 酶进行 50°C 10 分钟的热处理后, 即可失活。即使在 PCR 反应液中加入足够使残留 PCR 扩增产物降解的 UNG 酶, 在 PCR 反应前进行 95°C 2 分钟的变性处理即可使 UNG 酶完成失活, 不会使 PCR 扩增产物降解。

PCR 反应结束后, 在室温下放置 72~96 小时后比较扩增产物的降解。证实使用了本试剂盒的 UNG 酶的 PCR 扩增产物没有降解。



(Takara Bio Inc 比较结果)

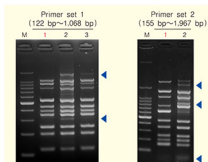
【制品一览表】

制品名称	Code No.	包装量
TaKaRa Taq™ HS PCR Kit, UNG plus	R013S	50 次
	R013A	200 次
Uracil DNA Glycosylase (UNG).heat-labile	2820	200 U
TaKaRa PCR Carryover Prevention Kit	6088	200 次
dU plus dNTP Mixture (12.5x)	4035	800 μ l

Multiplex PCR Assay Kit Ver.2

本品是高速Priming性DNA聚合酶与可发挥引物退火性的反应液配套的Multiplex PCR用试剂盒，是进行多重PCR的专用试剂盒。与以往的多重PCR试剂盒相比，可在更短时间内进行特异性且扩增序列偏好性少的PCR反应。通过调整使用量和反应时间可进行200对引物的多重PCR反应。

■ 使用10种引物的多重PCR反应例



1 : Multiplex PCR Assay Kit Ver.2
 2 : K公司同类试剂盒
 3 : M公司同类试剂盒
 M : 100 bp DNA Ladder

◀ : 非特异性扩增产物

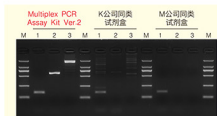
与其他公司同类产品相比，本产品可在更短时间内获得10种目的基因的特异性扩增片段。

	Multiplex PCR Assay Kit Ver.2	K公司同类产品	M公司同类产品
Preheat	94°C 1 min	95°C 3 min	95°C 15 min
PCR (30 Cycles)	94°C 30 sec	95°C 15 sec	95°C 30 sec
	57°C 30 sec	60°C 30 sec	60°C 90 sec
	72°C 30 sec (set 1) 60 sec (set 2)	72°C 60 sec (set 1) 120 sec (set 2)	72°C 90 sec (set 1) 120 sec (set 2)
Final extension	72°C 10 min	72°C 10 min	72°C 10 min
Total time	100 min (set 1) 115 min (set 2)	110 min (set 1) 140 min (set 2)	158 min (set 1) 188 min (set 2)

※使用TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice™ Gradient (Code No. TP600)

(Takara Bio Inc.比较结果)

■ 高反应效率与高特异性兼具！在单一PCR反应中也发挥威力



1 : LRF5 155 bp
 2 : JUV 604 bp
 3 : TGFβ1 2,004 bp
 M : DL2,000 DNA Marker

模板：人基因组DNA 100 ng / 50 μl 反应体系

使用各公司推荐反应条件：

使用易产生非特异性扩增产物的难以扩增的引物进行PCR反应时，可高特异性且高效率地对目的基因进行PCR扩增。

(Takara Bio Inc.比较结果)

【制品一览表】

制品名称	Code No.	包装量
Multiplex PCR Assay Kit Ver.2	RR062A	100 次
	RR062B (A×4)	400 次

TaKaRa EpiTaq™ HS (for bisulfite-treated DNA)

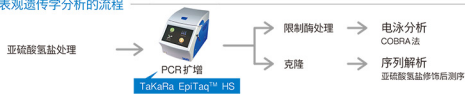
表观遗传学

亚硫酸氢盐处理

Hot Start

TaKaRa EpiTaq™ HS (for bisulfite-treated DNA) 是用于亚硫酸氢盐修饰后含有尿嘧啶的模板DNA进行PCR扩增时所需的理想DNA聚合酶。亚硫酸氢盐修饰后的DNA有时会影响PCR反应性能。本制品中的镁离子及dNTP浓度经调整后,可调节扩增效率和反应特异性,能够很好地扩增难扩增的目的片段。

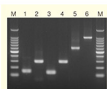
表观遗传学分析的流程



■ 以亚硫酸氢盐修饰后的HeLa基因组DNA为模板进行PCR扩增

使用MethylEasy™ Xceed Rapid DNA Bisulfite Modification Kit对HeLa基因组DNA进行亚硫酸氢盐修饰,然后使用TaKaRa EpiTaq™ HS对各基因的上游CpG岛区域进行PCR扩增反应。

结果证明,目的基因的各区域包括超过1 kb的区域都得到很好的扩增结果。



模板: 处理后的HeLa基因组DNA (100 ng/50 μl)

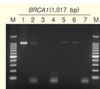
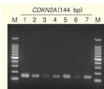
目的基因:

Lane 1: CDH1 (153 bp) 5: BRCA1 (613 bp)
 2: CDH1 (297 bp) 6: BRCA1 (1,017 bp)
 3: MLH1 (136 bp) M: 100 bp DNA Ladder
 4: MLH1 (292 bp)

PCR条件:
 98°C 10 sec
 55°C 30 sec
 72°C 30 sec } 40 Cycles

* 613 bp, 1,017 bp的情况下使用1 min

■ 各公司PCR酶扩增亚硫酸氢盐处理后的DNA结果比较



模板: 处理后的HeLa基因组DNA (100 ng/50 μl)

使用的酶:

Lane 1: TaKaRa EpiTaq HS 5: H公司PCR酶1*
 2: TaKaRa Taq HS 6: H公司PCR酶2*
 3: F公司PCR酶1* 7: I公司PCR酶1*
 4: G公司PCR酶1* M: 100 bp DNA Ladder

* 推荐用于亚硫酸氢盐处理后DNA的酶。

(Takara Bio Inc比较结果)

【制品一览表】

制品名称	Code No.	包装量
TaKaRa EpiTaq™ HS (for bisulfite-treated DNA)	R110Q	50 U
	R110A	250 U
	R110B (A×4)	1,000 U

高级别反转录酶PrimeScript™ RTase与PCR Kit组合,
适用于1st Strand cDNA合成

RT-PCR Kit

PrimeScript™ One Step RT-PCR Kit Ver.2

PrimeScript™ RT-PCR Kit

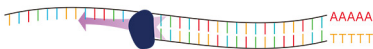
PrimeScript™ II High Fidelity RT-PCR Kit

PrimeScript™ II High Fidelity One Step RT-PCR Kit etc.

PrimeScript™ RTase

- 可以进行高质量的cDNA合成
- 非常强的延伸能力
- 42°C反应(降低mRNA分解)
- 对复杂的高级结构RNA也可进行反应

可实现从polyA开始合成高质量的cDNA!!



为了有效地进行RT-PCR实验



PrimeScript™ One Step RT-PCR Kit Ver.2

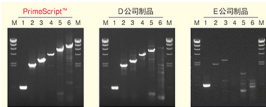
PrimeScript RTase和TaKaRa Ex Taq® HS优化组合而成的1 Step RT-PCR试剂盒。预混型的组分，使操作更为简便。



PrimeScript™ One Step RT-PCR Kit Ver.2 (Dye Plus)

上述Kit中添加了预混的色素和Loading Buffer，反应液可直接进行琼脂糖凝胶电泳。

■ 与其他公司制品的性能比较



M: λ -Hind III digest

以1 μ g total RNA为模板，按照各公司制品推荐的条件进行1 Step RT-PCR扩增各种目的片段。使用PrimeScript™ One Step RT-PCR Kit Ver.2可很好地扩增8 kb片段，其结果优于其它公司制品。

模板: human total RNA

目的基因:

Lane 1: TFR2 0.5 kb 4: TFR2 4.4 kb
2: CCND2 2.1 kb 5: DMD 6 kb
3: CCND2 2.8 kb 6: DMD 8 kb

(Takara Bio Inc比较结果)



PrimeScript™ RT-PCR Kit

PrimeScript™ RTase和 TaKaRa Ex Taq® HS优化组合使用，实现良好的延伸性能和高扩增效率。

制品名称	Code No.	包装量
PrimeScript™ One Step RT-PCR Kit Ver.2	RR055A	50 次
	RR055B (A × 4)	200 次
PrimeScript™ One Step RT-PCR Kit Ver.2 (Dye Plus)	RR057A	50 次
	RR057B (A × 4)	200 次
PrimeScript™ RT-PCR Kit	RR014A	50 次
	RR014B (A × 4)	200 次

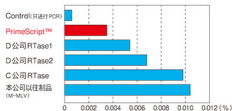
★ Topic

反转录酶的正确性也非常重要的!

多种实验都开始于反转录反应，但其正确性往往容易被忽略。PCR 是一种反复循环的 DNA 合成过程，与之相比，cDNA 合成只是一次的延伸反应，因此其合成错误一般被认为是可以忽略的，但是随着高保真酶的出现改变了这种状况。现以 total RNA 为模板，使用 PrimeScript 和各公司的反转录酶及本公司的高保真 PCR 酶 PrimeSTAR® HS 进行 RT-PCR 反应，再将 PCR 产物进行克隆测序，评价反转录反应的正确性对 RT-PCR 反应正确性的影响。结果显示，反转录反应的正确性对 RT-PCR 反应正确性是有影响的，在比较的各种酶中，本公司的 PrimeScript 表现出高的正确性。

【方法】

按 RTase 推荐的操作方法，用 Oligo dT 引物对从人胎盘来源的 total RNA (100 ng) 进行反转录反应，得到的 1 μ l cDNA (相当于 5 ng total RNA) 为模板，再使用 PrimeSTAR® HS 扩增 500 bp 的 TFR



(Takara Bio Inc比较结果)

基因，将 PCR 产物克隆于载体上，并随机挑选复数的克隆进行测序。确认总碱基数(约 20 万个)中的错配碱基数。此外，以 PrimeSTAR® HS 扩增基因组 DNA 作为 Control。

追求保真性的RT-PCR时……

1 Step RT-PCR PrimeScript™ II High Fidelity One Step RT-PCR Kit

2 Step RT-PCR PrimeScript™ II High Fidelity RT-PCR Kit

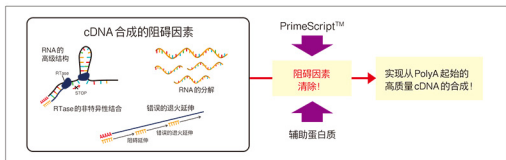
添加了辅助蛋白质的PrimeScript™ II RTase和对长链扩增及适用于富含GC序列模板的高保真酶PrimeSTAR® GXL优化组合。适用于RT-PCR实验。

- 可合成高保真长链cDNA
- 反应体系中 Total RNA 的使用范围更宽广

■ 添加了辅助蛋白质的升级PrimeScript™ II RTase

PrimeScript™ II RTase是在Takara公司特别的PrimeScript RTase中添加辅助蛋白质后进行了改良，可很好地抑制cDNA合成的阻遏因素。使用PrimeScript™ II RTase和Oligo dT引物从PolyA尾开始的延伸反应，在42°C条件下可防止RNA降解，也可获得低背景、高质量的全长cDNA。当然，PrimeScript™ II RTase还保持了PrimeScript RTase所持有的合成cDNA的效率及速度。

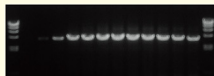
另外，由于此酶可完全抑制反应液配制时所产生的非特异性延伸反应，因此，反应液配置后，冰上放置直至反转录反应开始，不会发生抑制cDNA合成的现象。



■ 宽广的模板使用量 (2 Step RT-PCR)

使用PrimeScript™ II High Fidelity RT-PCR Kit进行2 Step RT-PCR反应，对模板量使用范围进行了研讨。

以HL60细胞来源的Total RNA (100 ng~6 µg) 为模板，使用Oligo dT Primer进行反转录反应 (20 µl反应体系)。再以5 µl的反转录反应液作为模板 (50 µl反应体系)，扩增4 kb TFR基因，结果显示：最大6 µg/20 µl的Total RNA进行反转录反应后也可获得良好的扩增。



目的基因: TFR 4 kb

PCR的模板量:

从左边起total RNA 25 pg, 250 pg, 2.5 ng, 25 ng, 50 ng, 125 ng, 250 ng, 500 ng, 750 ng, 1 µg, 1.25 µg, 1.5 µg

【制品一览表】

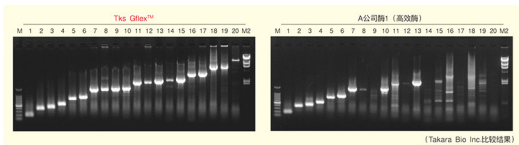
制品名称	Code No.	包装量
PrimeScript™ II High Fidelity RT-PCR Kit	R023A	50 次
	R023B (A × 4)	200 次
PrimeScript™ II High Fidelity One Step RT-PCR Kit	R026A	50 次
	R026B (A × 4)	200 次

实验应用

- 实验例 1: 使用 Tks Gflex™ 进行 ORF 全长的扩增
- 实验例 2: 使用 Tks Gflex™ 进行粗提样品的 PCR 扩增
- 实验例 3: 各种酶扩增重复序列正确性的比较
- 实验例 4: 多个 DNA 片段同时进行克隆
(PrimeSTAR® Max & In-Fusion®)
- 实验例 5: 使用 TaKaRa Ex Taq® 和 TaKaRa Taq™
在同一条件下各种引物扩增结果的比较
- 实验例 6: 使用 TaKaRa Ex Taq® 对胃活检组织的
Helicobacter pylori 进行检测

■ 实验例1: 使用 Tks Gflex™ 进行 ORF 全长的扩增

【方法】以人心脏来源的 Total RNA 为模板, 使用 PrimeScript™ II 1st Strand cDNA Synthesis Kit (Code No. 6210A) 进行反转录反应得到 cDNA, 再取 2 μl cDNA (相当于 500 ng Total RNA) 为模板, 为了使 20 种基因 ORF 的全长克隆于 pCMV-HA-C 载体, 使用了 In-Fusion 用引物和 Tks Gflex™ DNA Polymerase 及 A 公司的高效酶进行 PCR 扩增 (20 μl 反应体系)。反应液配制、PCR 反应条件及各酶的使用量均按照推荐使用条件。



No.	基因名称	链长 (bp)	GC (%)	No.	基因名称	链长 (bp)	GC (%)
1	PLN	159	39.6	11	KCND1	2,031	64.2
2	NCOX-5	339	68.4	12	DTNA	2,232	49.5
3	FABP3	402	50.0	13	JUP	2,238	62.2
4	MYL2	501	50.4	14	CEP350	2,418	42.0
5	CMA1	744	52.2	15	PKP2	2,514	53.3
6	CITFD2	813	63.8	16	KCNH2	3,480	65.9
7	GATA4	1,329	68.8	17	JAG1	3,657	54.0
8	MEF2C	1,392	49.4	18	MYH6	5,820	57.6
9	CD36	1,419	39.5	19	SCN5A	6,048	57.3
10	ADRF1	1,434	71.8	20	RYR2	14,904	46.2

Tks Gflex™ 的 PCR 条件:

94°C	1 min
↓	
96°C	10 sec
55 or 60°C	15 sec
68°C	30 sec/kb

} 35 Cycles

M: 100 bp DNA Ladder

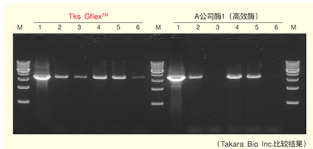
M2: λ -Hind II digest

★使用兼具优良延伸性和高特异性的 Tks Gflex™, 扩增从 0.1~15 kb 的 20 种 ORF 目的基因, 结果显示, 扩增片段大多数单一条带。

■ 实验例2: 使用 Tks Gflex™ 进行粗提样品的 PCR 扩增

【方法】利用简易抽提法制备温州橘子各组织部位的提取液¹ 25 μl 为模板, 使用 Tks Gflex™ DNA Polymerase 和 A 公司的高效酶进行 PCR 反应 (25 μl 反应体系)。

※向各样品中加入 Lysis Buffer (20 mM Tris-HCl, pH 8.0, 100 mM NaCl, 5 mM EDTA, 0.1% SDS) 和 Proteinase K, 60°C 5 min → 98°C 2 min 处理, 离心后获得的裂解液再进行 PCR 反应。



目的基因: *Psyl1* (约 3.5 kb)

样品:

- Lane
- 1: 从叶子中提取 DNA
 - 2: 叶子 (φ 2 mm) 裂解液
 - 3: 果皮 (φ 2 mm) 裂解液
 - 4: 树枝 (1.2 mm) 裂解液
 - 5: 果实 (φ 2 mm) 裂解液
 - 6: 外皮 (φ 2 mm) 裂解液
- M: 1 kb DNA Ladder

★使用 Tks Gflex™ 对植物来源的粗提样品可实现高效率的 PCR 扩增。

■ 实验例3: 各种酶扩增重复序列正确性的比较

【方法】 使用各酶扩增含有 (GA)_n 重复序列的500 bp区域 (向λ DNA来源的序列中插入重复序列)后, 克隆到载体上, 挑选复数克隆进行测序, 分析重复序列的错配率。

重复序列-(GA)_n

	Clone 数	Mutation			变异数	变异率
		-2(GA)	-1(GA)	+1(GA)		
Taq DNA Polymerase	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2 (α型)	131	2	15	1	18	13.74%
A公司酶3 (α型)	172	2	15	9	26	15.12%

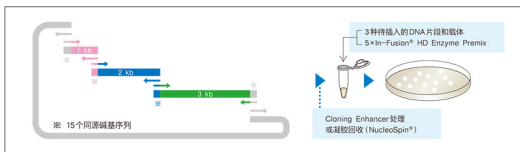
(Takara Bio Inc 比较结果)

※由于酶的slipping引起的重复序列的复制错误, 通过核酸外切酶的校正活性 (3' → 5' exonuclease活性) 也不能修复。
因此即使是具有校正活性的高保真α型DNA polymerase, 其重复序列的复制正确性不一定优于没有校正活性的Taq DNA polymerase。

★无论是PrimeSTAR[®] Max还是PrimeSTAR[®] GXL, 由于添加了延伸因子, 合成能力大大提升, 对重复序列的扩增有很高的正确性。

■ 实验例4: 多个DNA片段同时进行克隆 (PrimeSTAR[®] Max & In-Fusion[®])

【方法】 使用PrimeSTAR[®] Max分别扩增1 kb、2 kb、3 kb的目的DNA片段和2.7 kb的载体, 使用In-Fusion[®] HD试剂盒进行定向克隆。再使用高转化效率的感受态细胞 *E.coli* HST08 Premium Competent Cells (Code No. 9128) 转化并进行蓝/白筛选。



插入片段大小(kb)	克隆数(1/5涂菌量)	阳性克隆数
1 kb + 2 kb + 3 kb	192	7/10

对3个DNA片段 (1 kb、2 kb、3 kb) 同时克隆, 随机挑选10个克隆子进行菌落PCR, 对插入片段进行确认。其中有7个克隆子是正确地插入了目的片段的阳性克隆 (1 kb + 2 kb + 3 kb)。

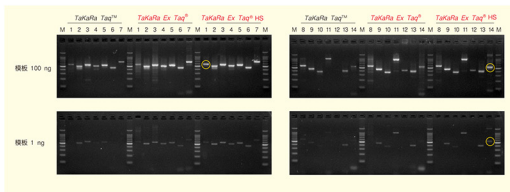
★PrimeSTAR[®] Max DNA Polymerase拥有5 秒/kb的延伸能力, PCR扩增5 kb的片段约60分钟 (※) 即可完成。
PCR扩增→扩增产物确认→In-Fusion反应→克隆转化3小时就可以完成! 克隆的目的DNA片段是通过PCR扩增而获得, 另外, 载体线性化也推荐使用PCR扩增的方法。

PrimeSTAR Max的PCR条件		30 Cycles
98°C	10 sec	
55°C	5 or 15 sec	
72°C	5 sec/kb	

注: 延伸时间根据 1 min/kb 设定, 具体请见说明书。

■ 实验例5: 使用*TaKaRa Ex Taq*[®]和*TaKaRa Taq*[™] 在同一条件下各种引物扩增结果的比较

【方法】 以人基因组DNA为模板, 扩增14种1 kb左右的基因时使用不考虑Tm值的随机设计的引物, 在同一条件下使用*TaKaRa Ex Taq*[®]、*TaKaRa Ex Taq*[®] HS和*TaKaRa Taq*[™] 进行PCR扩增, 比较其扩增成功率和扩增效率。



模板: 人基因组DNA (50 μ l 反应体系)
装置: *TaKaRa* PCR Thermal Cycler Dice Gradient

PCR条件: 98°C 10 sec
55°C 30 sec
72°C 30 sec } 30 Cycles

3% NuSieve 3:1 Agarose (Lonza公司)
3 \times 上样
M: 100 bp DNA Ladder

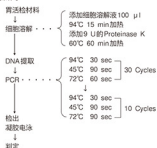
★与*TaKaRa Taq*[™]相比,*TaKaRa Ex Taq*[®]和*TaKaRa Ex Taq*[®] HS的扩增成功率和扩增产物的收量都很高。另外, 画○的地方是标出Hot Start PCR的扩增效果。*TaKaRa Ex Taq*[®]和*TaKaRa Ex Taq*[®] HS是通用性高、容易使用的PCR酶。

■ 实验例6: 使用*TaKaRa Ex Taq*[®] 对胃活检组织的*Helicobacter pylori*进行检测

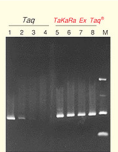
1983年, Marshall和Warren发现了*Helicobacter pylori*是胃病的病原体。自发现以来, 以胃溃疡为首的各种各样的胃病倍受关注。*H.pylori*的生长很迟缓, 用培养的方法分离需要一周时间, 而使用PCR方法, 7小时后即可判定结果。但是, 从胃炎患者体内获取的胃活检材料对于普通的*Taq* DNA Polymerase是很难扩增的DNA模板。

以下是神戸市环境卫生研究所细菌部的黑川学老师提供的实验数据。使用*TaKaRa Ex Taq*[®]和普通的*Taq* DNA Polymerase扩增胃活检材料, 比较扩增的灵敏度。

【操作】



【结果】



Lane 1, 5: *H.pylori* NCTC11637
2, 6: 胃活检 (1)
3, 7: 胃活检 (2)
4, 8: 胃活检 (3)

★以前的*Taq* DNA Polymerase 难以检出的样品, 使用*TaKaRa Ex Taq*[®] 就可以检出。

Q & A

— 为了顺利进行 PCR 扩增 —

对用户提出的疑问，我们以 Q & A 的形式进行了总结
希望能对广大用户获得良好的 PCR 扩增结果起到一定的帮助。

PCR 的基础篇

推荐酶篇

疑难解答篇

PCR 的基础篇

Q1 设计引物时有哪些注意事项？

A1 请从以下几点考虑引物的设计：

- 通常引物长度保持在20~25 mer，尤其重要的是设计引物的Tm值要适合PCR反应条件。详情请参考各制品的说明书。
- 扩增10 kb以上片段时，引物长度保持在25~35 mer可获得良好的扩增结果。Tm（按照下面的计算公式*1计算时）在65℃以上时建议利用引物设计软件*2进行引物设计。
- GC含量在50~60%。引物3'端10个碱基GC含量不宜过高，可提高扩增反应特异性。另外，3'端尽量避免使用易产生引物错配的T碱基。
- 上下游引物尽量避免互补，特别是3'端避免3个以上碱基的互补。另外，上下游引物的Tm值不能相差太大。
- 为了避免引物内部二级结构的形成，引物自身不能含有互补序列。
- GC rich模板时，建议使用Tm值在60℃以上的引物。
- 使用不同引物在同一PCR反应条件下进行数个PCR扩增时，建议根据酶和PCR反应条件，设计Tm值适当的引物。

*1 $Tm(°C) = 2(nA+nT) + 4(nG+nC) - 5$
以上公式适合25 mer以下的引物，引物长度大于25 mer时，请使用引物设计软件计算引物的Tm值。

*2 引物设计用软件
Primer 3 ([http://www-genome.wi.mit.edu/ftp/distribution/ software/](http://www-genome.wi.mit.edu/ftp/distribution/software/))
OLIGO Primer Analysis Software (Molecular Biology Insights 公司)

Q2 适合的模板添加量是多少？

A2 根据基因组DNA、质粒DNA及反转录产物等模板种类不同，PCR反应的适合模板添加量也不同。

特别是使用PrimeSTAR® HS DNA Polymerase时，过量的模板有时会对PCR扩增产生阻害作用。另外，使用PrimeSTAR Max DNA Polymerase时，根据模板种类、模板用量及模板质量可调整PCR反应条件。

使用PrimeSTAR Max DNA Polymerase时，模板可按以下推荐量添加（50 μl反应体系）：

Human genomic DNA	5~200 ng
<i>E.coli</i> genomic DNA	100 pg ~ 100 ng
cDNA Library	1~200 ng
λ DNA	10 pg~10 ng
质粒DNA	10 pg~1 ng

Q3 PCR反应条件的设置有哪些注意事项？

A3 请从以下几点考虑：

- **PCR循环反应前的预变性条件。**
MightyAmp DNA Polymerase因为使用了98°C能非常强地抑制DNA聚合酶活性的抗体，PCR反应前必需进行98°C，2 min的预变性。除了上述酶外，其它的Takara PCR酶，PCR反应前无需预变性。扩增基因组DNA等复杂的模板时，PCR反应前预变性也只需94°C 1 min。过度的加热处理会使酶失活。

- **PCR循环变性条件**

对于变性条件，请根据PCR仅种类及Tube种类设定条件。设定标准为94°C时20~30秒、98°C时5~10秒。对于耐热性很好的PrimeSTAR系列，推荐使用98°C 5~10秒的高温短时间的变性条件。

使用TaKaRa Taq HS Perfect Mix 和 TaKaRa Taq HS Low DNA时，变性条件必须设定为94°C，5秒。如果变性温度设定在95°C以上，酶失活会导致PCR反应性能下降，不能获得PCR扩增产物。

- **退火条件**

退火条件的改变会引起扩增效率及扩增特异性发生变化。退火温度过低时，会增加引物错配引起的非特异性扩增产物和出现拖尾现象，有时目的扩增产物也会减少。退火温度过高时，会降低Priming效率，而减少了目的扩增产物量。所以要根据引物的Tm值调整退火温度。采用2 Step PCR有时也可以改善扩增效率及扩增的特异性。

对于Taq系列，推荐使用的退火时间为30秒。对于高Priming效率的PrimeSTAR系列，退火时间推荐使用5~15秒。退火时间过长，有可能出现引物错配引起的非特异性扩增及拖尾现象。

扩增1 kb以下的短片段时，推荐使用3 Step PCR。扩增高GC含量的目的片段或10 kb以上的长片段时，推荐使用2 Step PCR。

- **延伸时间**

通常延伸时间为1 min/kb。

快速PCR扩增用SpeedSTAR或SapphireAmp Fast，延伸时间为10 sec/kb。

Takara特别开发的含有Extension因子的PrimeSTAR Max以及PrimeSTAR GXL可进行5~20 sec/kb的快速PCR反应，并且将延伸时间延长到1 min/kb时，对高浓度的模板也可有效进行PCR扩增。Tks Gflex DNA Polymerase可以设定为30 sec/kb，但扩增粗提样品时，需设定1 min/kb。

推荐酶篇

Q4 高保真酶有哪些？

A4 PrimeSTAR系列酶的保真性高于High Fidelity PCR的基础酶Pfu DNA Polymerase。其中PrimeSTAR Max DNA Polymerase显示出非常高的保真性能。以pUC119全长作为模板进行PCR扩增、克隆转化后，对其扩增产物碱基进行了测序分析，370,656个碱基中仅4个碱基错配（错配率0.00108%）。另外，本酶同其他酶相比，对于含有重复序列的模板扩增保真性也非常高，降低了相似序列产生的模板交换反应（形成嵌合体）的频率。（参考实验应用的实验例3）。

Q5 Takara有哪些酶适用于扩增高GC含量目的序列？

A5 请按以下顺序选择酶

- **1st Choice**

Tks Gflex DNA Polymerase适用于细菌基因组等GC含量高的靶基因扩增。GC含量高于70%时，也显示出高反应性能，可进行低背景的高特异性PCR扩增。

- **2nd Choice**

当需要高保真性扩增时，PrimeSTAR GXL是PrimeSTAR系列中对GC rich模板扩增性能最强的DNA聚合酶。

- **3rd Choice**

根据不同的目的基因，也可以使用TaKaRa LA Taq with GC Buffer。按照GC Buffer I、GC Buffer II的顺序尝试扩增。GC Buffer I可用于长片段扩增，而GC Buffer II受扩增片段大小限制，但对于具有复杂二级结构的模板扩增更有效。

Q6 Takara有哪些酶适用于扩增长片段？

A6 要想得到超过6 kb、高保真的扩增片段时，推荐使用Tks Gflex DNA Polymerase 或PrimeSTAR GXL。这两种酶可扩增以人基因组为模板的30 kb的目的片段。使用Tks Gflex DNA Polymerase 或PrimeSTAR GXL难以扩增或要获得更高的扩增效率时，推荐使用TaKaRa LA Taq[®]。

Q7 Takara有哪些酶适用于短时间内完成PCR反应？

A7 推荐使用PrimeSTAR Max、PrimeSTAR GXL、SapphireAmp Fast。含有Takara特别研发的Extension因子，具有高Priming效率的PrimeSTAR Max可以将延伸时间设定为5 sec/kb，退火时间设定为5 sec。是迄今为止Takara公司反应速度最快的DNA聚合酶。根据PrimeSTAR GXL的快速PCR操作流程可将延伸时间设定为10~20 sec/kb，可在非常短时间内完成对长片段的扩增。

SapphireAmp Fast是具有高反应性能的酶，可以将延伸时间设定为10 sec/kb进行PCR扩增。

Q8 Takara有哪些酶适用于扩增高AT含量的序列?

A8 Tks Gflex DNA Polymerase, TaKaRa Ex Taq, TaKaRa LA Taq、PrimeSTAR GXL DNA Polymerase对于具有内含子的基因组DNA等AT含量高的靶基因的扩增有效。首先请尝试使用Tks Gflex DNA Polymerase。对于其他酶难以扩增的局部存在AT序列、AT序列含量高于60%的靶基因更有效。特别要求保真性高时,推荐使用PrimeSTAR GXL。PrimeSTAR GXL使用附带的Buffer即可以进行PCR扩增。PrimeSTAR GXL是PrimeSTAR系列中对AT rich模板扩增性能最强的DNA聚合酶,但不适于亚硫酸盐处理后的DNA等含尿嘧啶模板的扩增。

Q9 亚硫酸盐处理后的DNA扩增时, Takara有哪些酶可使用?

A9 请使用TaKaRa EpiTaq HS (for bisulfite-treated DNA)。本酶通过调整Mg²⁺和dNTP的浓度,可调节扩增效率和反应特异性。因此对难以扩增的目的基因也能得到良好的扩增结果。另外,进行Methylation Specific PCR (MSP)分析时,请使用MSP专用试剂EpiScope MSP Kit (Code No. R100A/B)。

Q10 含有PCR阻害物质的样品进行PCR反应时, Takara有哪些酶可使用?

A10 对于通常PCR酶很难扩增含PCR阻害物质多的样品,使用Tks Gflex DNA Polymerase和MightyAmp DNA Polymerase Ver.3适合。Tks Gflex DNA Polymerase对GC rich、AT rich的模板都有很好地扩增。血液样品使用MightyAmp DNA Polymerase Ver.3可以直接进行PCR反应。为获得高保真的扩增结果,建议使用PrimeSTAR GXL。按照标准操作流程可以进行扩增,但在有些情况下,如果使用2倍酶量的PrimeSTAR GXL,会进一步改善反应性能。如果使用这些酶无法获得扩增产物,需提高模板DNA的纯度。

Q11 石蜡包埋组织切片进行PCR反应时, Takara有哪些酶可使用?

A11 推荐使用MightyAmp DNA Polymerase Ver.3。为获得高保真的结果,建议使用PrimeSTAR® GXL。

Q12 Takara有哪些酶适用于多个样品进行电泳分析?

A12 推荐使用Premix型的、反应后可以直接进行琼脂糖凝胶电泳的Premix Taq (plus dye)系列。除此之外EmeraldAmp系列是高扩增性能的酶,对于GC rich、AT rich的样品,不必特别设置PCR条件即可在很宽广的模板范围内对目的片段进行扩增。另外, SapphireAmp Fast PCR Master Mix是快速PCR酶,可迅速判定PCR结果。

Q13 Takara有哪些酶适用于菌落PCR?

A13 推荐使用不受菌体(核酸)加入量的影响,并且PCR反应液能直接进行琼脂糖凝胶电泳的EmeraldAmp PCR Master Mix、EmeraldAmp MAX PCR Master Mix、SapphireAmp Fast PCR Master Mix以及Premix Taq (TaKaRa Taq / Ex Taq / LA Taq Version 2.0 Plus dye)。

Q14 使用含有次黄嘌呤的引物时注意事项有哪些?

A14 MightyAmp DNA Polymerase, Takara Taq及Takara Taq Hot Start Version可以使用含有次黄嘌呤的引物。使用具有3'→5' exonuclease活性的PCR酶(PrimeSTAR HS DNA Polymerase、PrimeSTAR Max DNA Polymerase、PrimeSTAR GXL DNA Polymerase、Tks Gflex DNA Polymerase、TaKaRa Ex Taq、TaKaRa LA Taq等)时,若使用含有次黄嘌呤的引物,反应性能会显著降低。因此如果使用上述PCR酶获得混合产物时,请选择简并引物。

Q15 Takara有哪些酶适用于多重PCR反应?

A15 推荐使用Multiplex PCR Assay Kit Ver.2。不需要进行引物和反应条件优化等繁琐的工作,只需要简单的条件摸索即可进行多重PCR实验。

Q16 扩增产物的末端形状及适合的克隆方法?

A16 请按照酶的类型进行克隆。

• PrimeSTAR系列及Tks Gflex DNA Polymerase

PrimeSTAR系列DNA Polymerase和Tks Gflex DNA Polymerase因具有非常强的3'→5' exonuclease活性,扩增产物大多数为平滑末端。使用Mighty TA-cloning Reagent Set for PrimeSTAR (Code No.6019)可克隆于T载体中。

• Taq 酶系列及MightyAmp DNA Polymerase

使用TaKaRa Taq, TaKaRa Ex Taq, TaKaRa LA Taq、SpeedSTAR HS、EmeraldAmp、SapphireAmp Fast及MightyAmp扩增得到的PCR产物3'末端大多数附有一个A碱基,可直接克隆于T-vector中。请使用Mighty TA-cloning Kit (Code No. 6028)。

疑难解答篇

Q17 没有扩增产物，应从哪方面进行研讨？

A17

• 适用于各种酶

引物序列、长度、GC含量要适当。

引物长度短于20 mer时，进行Shuttle PCR (2 Step PCR) 有时很难扩增。

上游引物与下游引物的Tm值相差5℃以上时，有时很难扩增。此时，以低的引物Tm值为标准重新调整退火温度可得到改善。

请避免使用纯度低或含阻害物的模板。含PCR阻害物的模板进行PCR反应时，使用Tks Gflex DNA Polymerase、MightyAmp DNA Polymerase等可得到改善。

请适当调整反应液量。Thermal cycler和PCR Tube配套使用时，10 μl以下的反应液量不能很好的扩增。

• 使用PrimeSTAR HS DNA Polymerase

适当调整模板量。当模板为基因组DNA或cDNA文库时，反应液量为50 μl的情况下，模板添加量调整为约100 ng以下，再进行反应。延伸时间设定为1 min/kb以上。

适当提高引物浓度也可改善扩增效果。

• 使用PrimeSTAR Max DNA Polymerase时

模板量多时，调整延伸时间。50 μl反应体系中核酸量超过200 ng时，延伸时间设定为30~60 sec/kb。

适当提高引物浓度也可改善扩增效果。

• 使用PrimeSTAR GXL DNA Polymerase时

通常延伸时间设定为1 min/kb。当扩增短片段 (<1 kb) 时，延伸时间可设定为10 sec (~30 sec)/kb。

• 使用SpeedSTAR HS DNA Polymerase时

通常延伸时间设定为10 sec/kb。扩增人基因组DNA等复杂的模板时，请尝试将延伸时间设定为30 sec/kb。

• 使用MightyAmp DNA Polymerase时

使用了高效的Hot Start抗体，因此必须进行[98℃、2 min]的预变性。

• 使用PrimeSTAR GXL DNA Polymerase时

进行1 kb以下片段的扩增时，引物Tm值要高于55℃。退火温度设定为60℃；引物Tm值低于55℃时，缩短延伸时间至5~10 sec/kb。

• 使用TaKaRa Ex Taq、TaKaRa LA Taq时

根据引物情况，将PCR筒更换为Hot Start Version，可明显改善扩增效果。

• 使用SpeedSTAR HS DNA Polymerase时

延伸时间设定过长，会出现smear。延伸时间以10~20 sec/kb为标准进行设定。扩增量少时，尝试增加5个循环的PCR反应。

• 使用Tks Gflex DNA Polymerase

延伸时间设定过长，会出现smear。特别是扩增短片段 (<1 kb) 时，延伸时间可尝试缩短为10~20 sec/kb。

Q18 若出现非特异性扩增或拖尾时，该如何调整？

A18

• 适用于各种酶

请使用特异性高的引物。

请确认引物的使用量、酶量、模板量是否适当、延伸时间的设定是否过长。尝试退火温度间隔2℃递增后进行反应。有时2 Step PCR也能很好的扩增。

微量模板时，使用Nested PCR可有效扩增。

• 使用PrimeSTAR HS DNA Polymerase 和PrimeSTAR Max DNA Polymerase时

请确认3 Step PCR的退火时间。为了进行特异性扩增，缩短退火时间 (5秒或15秒) 尤其重要。

请根据实验目的选择!

End Point PCR仪

A4纸大小的紧凑型PCR仪 TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice™ Touch (Code No. TP350)

是一款拥有紧凑型机身、宽大触摸屏和高配置加热块的性能优越的多功能96孔PCR仪。可进行Touchdown PCR、Long-range PCR等设定程序，可在各种条件下进行PCR反应。从主菜单进入向导模式 (Wizard) 之后，可以很便捷地编辑反应程序，并且能立即运行可设置最大24℃的梯度温差，摸索适合的PCR反应条件将变得简单易行。非常小巧轻便，节省大量实验室空间。



- ◆ 7英寸的宽大触摸屏，编写程序简单快捷
- ◆ 可设置最大温差为24℃的梯度温度
- ◆ 长18 cm×宽28.5 cm、重量仅为5.0 kg的小型设计
- ◆ 可用USB闪存保存或者读取反应程序

【产品型号】

名称	Dice Touch
Code No.	TP350
外形尺寸(mm)	180(W) × 285(D) × 205(H) (上盖关闭时)
重量	5.0 kg
电源电压	AC 100~240V, 50/60Hz 5 A (100 V时)
加热冷却方式	Peltier 元件
最大加热速度	3.0℃ / 秒以上
最大冷却速度	2.5℃ / 秒以上
加热块材质	0.2 ml × 96 铝合金材质
温度精度	±0.5℃ (30~99℃)
温度均一性	±0.3℃ (30~99℃)
温控范围	4.0~99℃
储存程序数量	内存10,000 以上 可使用USB存储器
梯度功能	12梯度 (最大温差24℃)
显示面板	7英寸彩色触摸屏 (压感式)

【关联制品】

0.2 ml single tube

制品名称	Code No.	包装量
0.2 ml Hi-Tube Dome Cap	NJ200	1,000 个
0.2 ml Single-Tube Flat Cap *	NJ205	1,000 个

*样品不易吸附在管壁的高回收型反应管。

0.2 ml 8联tube & cap

制品名称	Code No.	包装量
0.2 ml Hi-8-Tube	NJ300	125 strips
0.2 ml Hi-8-Dome Cap	NJ301	125 strips
0.2 ml Hi-8-Flat Cap	NJ302	125 strips
TaKaRa PCR Micro Strip 8-Tube	9148	120 strips
TaKaRa PCR Micro Strip 8-Cap	9149	120 strips

注1) NJ300与NJ301及NJ302配套使用、9148与9149配套使用。

Plate & 8联cap

制品名称	Code No.	包装量
96 well snap plate	NJ710	10 plates
Flat cap for snap plate	NJ720	120 strips

注2) NJ710与NJ720配套使用。

<制品一览表>

将本手册中介绍的主要制品进行了归类

	制品名称	Code No.	包装量
高成功率! 用于各种情况下的Tks Gflex™	Tks Gflex™ DNA Polymerase	R060Q/A/B	50 U/250 U/1,000 U
	Tks Gflex™ DNA Polymerase Low DNA	R091S/A	20/100 次 (20 µl 反应)
兼具Rtase & DNA polymerase活性的PCR酶	TaKaRa 7th	RS10A	250 U
	TaKaRa 7th Hot Start Version	RS20A	250 U
高保真PCR酶 PrimeSTAR®系列	PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase	R050Q/A/B	40/200/800 次 (50 µl 反应)
	PrimeSTAR® GXL Premix	R051S/A/B	40/200/800 次 (50 µl 反应)
	PrimeSTAR® Max DNA Polymerase	R045Q/A/B	25/100/400 次 (50 µl 反应)
	PrimeSTAR® HS DNA Polymerase	R010Q/A/B (A×4)	50 U/250 U/1,000 U
	PrimeSTAR® HS (Premix)	R040Q/A	40/100 次 (50 µl 反应)
	PrimeSTAR® HS DNA Polymerase with GC Buffer	R044Q/A/B	125 U/250 U/1,000 U
(基本PCR) TaKaRa Ex Taq®系列	TaKaRa Ex Taq® Hot Start Version	RR006Q/A/B (A×4)	50 U/250 U/1,000 U
	TaKaRa Ex Taq®	RR001Q/A/B/C	50 U/250 U/1,000 U/3,000 U
		RR53A	250 U
	TaKaRa Ex Taq® (Mg ²⁺ free Buffer)	RR53AM	250 U
		RR01AM/BM/CM	250 U/1,000 U/3,000 U
	Premix Ex Taq™ Hot Start Version	RR030Q/A	40/100 次 (50 µl 反应)
Premix Taq™ (Ex Taq™ Version 2.0)	RR030Q/A	40/120 次 (50 µl 反应)	
(基本PCR) TaKaRa LA Taq®系列	TaKaRa LA Taq® Hot Start Version	RR042Q/A/B (A×4)	50 U/125 U/500 U
	TaKaRa LA Taq®	RR02MQ/MA/MB (A×4)	50 U/125 U/500 U
		RR52A	125 U
	TaKaRa LA Taq® (Mg ²⁺ free Buffer)	RR002A/B (A×4)	125 U/500 U
		RR52AM	125 U
	TaKaRa LA Taq® with GC Buffer	RR02AG/BG (AG×4)	125 U/500 U
Premix Taq™ (LA Taq™ Version 2.0)	RR52AG	125 U	
RR900A		60 次 (50 µl 反应)	
(基本PCR) TaKaRa Taq™系列	TaKaRa Taq™ Hot Start Version	R007Q/A/B (A×4)	50 U/250 U/1,000 U
	TaKaRa Taq™	R007Z	10,000 U
		R001A/B/C	250 U/1,000 U/3,000 U
	TaKaRa Taq™ (Mg ²⁺ free Buffer)	R500A/Z	250 U/10,000 U
		R001AM/BM/CM	250 U/1,000 U/3,000 U
	R500AM	250 U	
	TaKaRa Taq™ HS Perfect Mix	R300S/A/B (A×4)	20/100/400 次 (50 µl 反应)
	Premix Taq™ (TaKaRa Taq™ Version 2.0)	R004Q/A	40/120 次 (50 µl 反应)
	Premix Taq™ Hot Start Version	R028Q/A	40/100 次 (50 µl 反应)
	TaKaRa Taq™ HS Low DNA	R090S/A	20/100 次 (20 µl 反应)
MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.2	R071Q/A/B (A×4)	50 U/250 U/1,000 U	
	R076A/B (A×4)	250 U/1,000 U	
MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.3	R077A	200 次	
直接电泳! Dye Plus Premix 试剂	Premix Taq™ (TaKaRa Taq™ Version 2.0 plus dye)	RR910Q/A	40/120 次 (50 µl 反应)
	Premix Taq™ (Ex Taq™ Version 2.0 plus dye)	RR902Q/A	40/120 次 (50 µl 反应)
	Premix Taq™ (LA Taq™ Version 2.0 plus dye)	RR903A	80 次 (50 µl 反应)
	EmeraldAmp® MAX PCR Master Mix	RR320Q/A	40/160 次 (50 µl 反应)
	EmeraldAmp® MAX HS PCR Master Mix	RR330A	160 次 (50 µl 反应)
	EmeraldAmp® PCR Master Mix	RR300Q/A/B	40/160/800 次 (50 µl 反应)
	SapphireAmp® Fast PCR Master Mix	RR350Q/A/B	40/160/800 次 (50 µl 反应)
	EmeraldAmp® GT PCR Master Mix	RR310Q/A	40/160 次 (50 µl 反应)
	TaKaRa Taq™ HS PCR Kit, UNG plus	R013S/A	50 次/200 次
	Uracyl DNA Glycosylase (UNG).heat-labile	2820	200 U
TaKaRa PCR Carryover Prevention Kit	6088	200 次	
dJ plus dNTP Mixture (12.5 ×)	4035	800 µl	
多重PCR用	Multiplex PCR Assay Kit Ver.2	RR062A/B (A×4)	100/400 次
亚硫酸氢盐修饰后DNA用	TaKaRa EpiTaq™ HS (for bisulfite-treated DNA)	R110Q/A/B (A×4)	50 U/250 U/1,000 U

- 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。
- 专利许可及注册商标信息请在网站上确认：<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2020年2月1日的信息，最新信息请参考公司官网。

关注Takara微信和微博，
好礼常常有！



Takara微博



Takara微信



Takara官网



Clontech Takara cellartis

销售商：

宝日医生物技术（北京）有限公司
Takara Biomedical Technology (Beijing) Co., Ltd.
地址：北京市昌平区科学园路22号（中关村生命科学园内）
电话：010-80720985、80720986

制造商：

宝生物工程（大连）有限公司
Takara Biotechnology (Dalian) Co., Ltd.
地址：辽宁省大连经济技术开发区东北二街19号
电话：0411-87621671

技术咨询热线：4006518761, 4006518769
官网地址：<https://www.takarabiomed.com.cn/>