

长链、重复序列、高GC含量序列等难扩增模板的高成功率扩增！

# Tks Gflex™ DNA Polymerase

that's  
**GOOD**  
science!

**PCR扩增成功率显著提高！可在大多数情况下适用！**

## 高成功率PCR酶

α型聚合酶，添加了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！

## 使用其他酶难以扩增的目的基因

GC或AT rich、长链、重复序列等难扩增模板也能轻松扩增！

## 宽广范围的模板

可使用粗提裂解液进行PCR或者直接PCR。cDNA模板量多时也可以有效扩增！

## 扩增偏差低

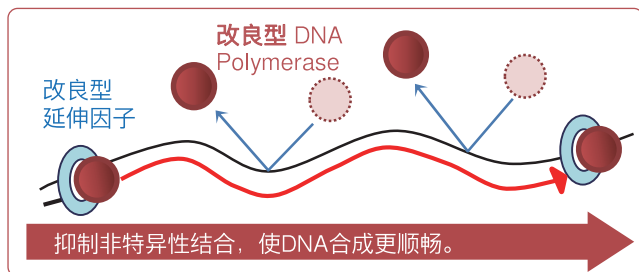
即使模板序列有偏好性，也可以很好地扩增。适合于文库扩增和宏基因组分析！

### 改良型的α型酶抑制了对模板的非特异性结合

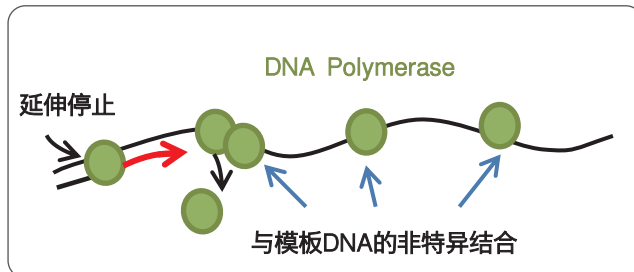
DNA聚合酶与模板DNA的非特异性结合会阻碍引物的延伸反应。一般的α型聚合酶容易引起此种非特异性结合，使得PCR反应难以进行。

Tks Gflex™ DNA Polymerase是通过对 *Thermococcus* 属细菌来源的DNA聚合酶进行改良后获得的，可以成功地抑制DNA聚合酶与模板DNA的过剩结合。该酶不仅具有α型聚合酶特别的高保真性，而且还具有卓越的反应性能。

#### Tks Gflex™的反应示意图



#### 以往的α型聚合酶的反应示意图



### 采用特别的延伸因子

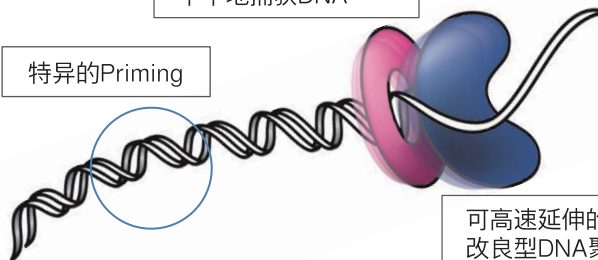
通过上述改良型酶与Takara Bio特别的改良型延伸因子 (PrimeSTAR系列酶也采用此延伸因子)的结合，使延伸性及反应速度大大提升。

### 高特异性扩增

通过在反应缓冲液中添加提高Priming特异性的物质，既可实现高速反应，又可大大提高扩增特异性。

使用改良型延伸因子  
牢牢地捕获DNA

特异的Priming



可高速延伸的  
改良型DNA聚合酶

※Priming是指：  
DNA聚合酶在引物的3'末端形成酶/DNA复合体，  
开始链延伸的过程。  
这个复合体形成就称为Priming。

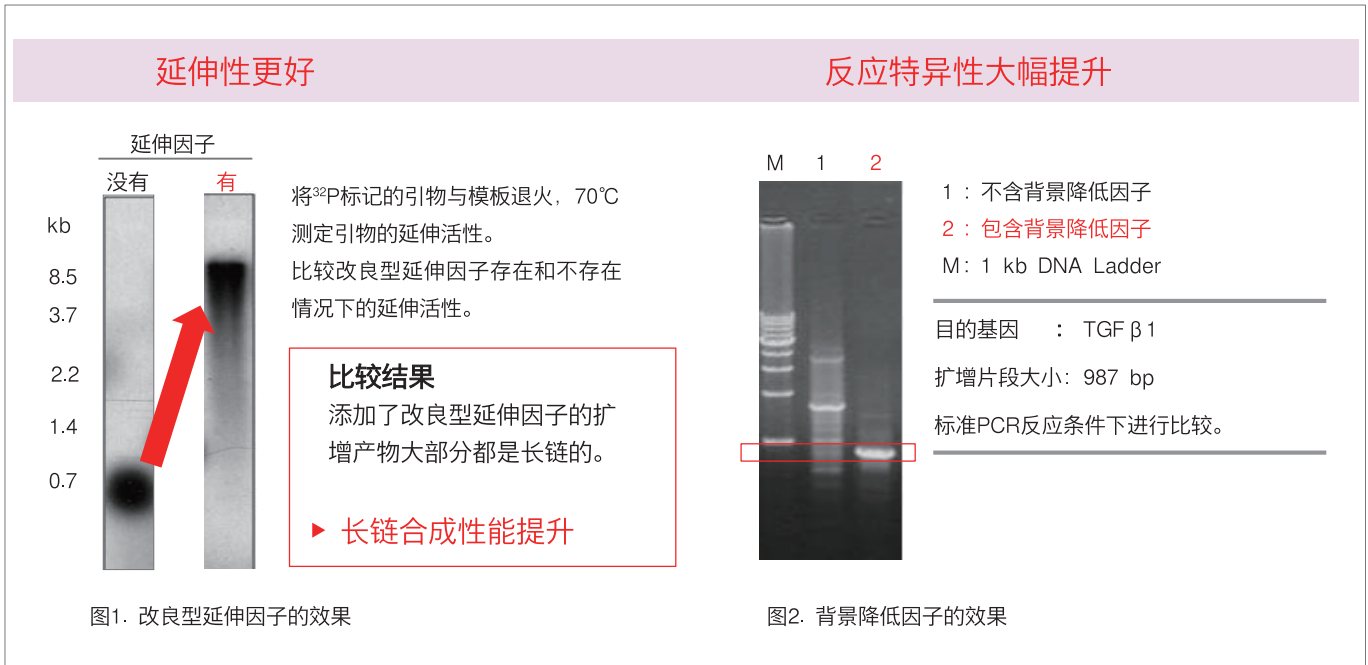
# Tks Gflex™ DNA Polymerase技术信息

## ■ 改良型延伸因子

作用：提升长链合成性能

## ■ 背景降低因子

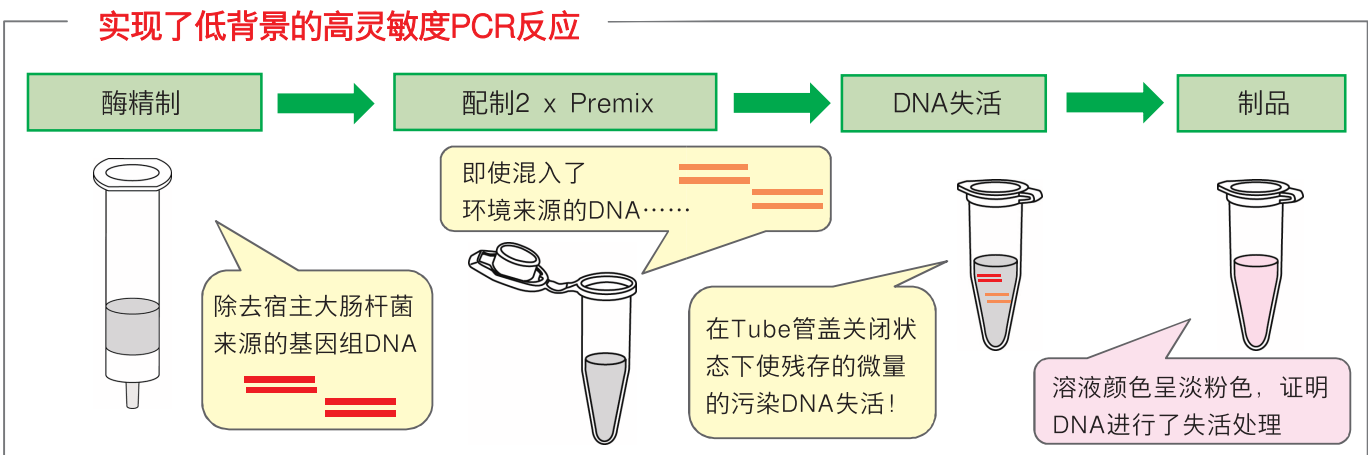
作用：提高引物特异性结合，大幅减少非特异性扩增。



# 关联制品：Tks Gflex™ DNA Polymerase Low DNA技术信息

## ■ PCR酶中残留的宿主菌和环境细菌来源的DNA困扰时请使用—PCR酶Low DNA系列！

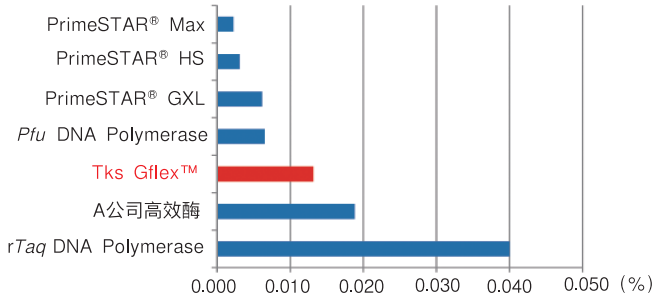
宿主大肠杆菌来源的DNA及环境来源的DNA对PCR酶的污染是造成假阳性和No Template Control扩增的主要原因。Takara Bio公司的「Low DNA」系列采用特别的精制技术和DNA失活技术，能很好地抑制作为PCR模板的残留DNA，是一种2 x Premix型PCR酶。



# Tks Gflex™的基本性能

## 实验例1: Tks Gflex™的保真性

使用Tks Gflex™进行PCR扩增的错误率约为8 kb片段有1个错配的比例，针对通常的克隆显示了足够的保真性。

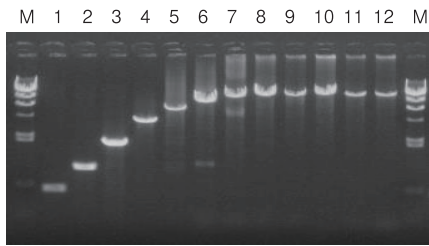


错配率
0.0022% (12 / 542,580)
0.0031% (15 / 484,429)
0.0062% (30 / 486,923)
0.0065% (13 / 199,186)
<b>0.0131% (42 / 320,204)</b>
0.0188% (64 / 340,525)
0.0400% (64 / 159,994)

(Takara Bio Inc.比较结果)

## 实验例2: 长链基因的扩增性能

针对于Tks Gflex™的长链扩增性能进行了验证。确认以基因组DNA为模板可扩增得到30 kb的产物。该酶通过使用改良型延伸因子，使得长链扩增的延伸反应速度也能达到30秒/kb。



模板: 人基因组DNA (100 ng / 50 μl反应体系)

扩增片段大小:

Lane 1 : 0.5 kb    4 : 4 kb    7 : 12 kb    10 : 24 kb  
 2 : 1 kb    5 : 6 kb    8 : 15 kb    11 : 27 kb  
 3 : 2 kb    6 : 8.5 kb    9 : 20 kb    12 : 30 kb

M: λ-Hind III digest

(Takara Bio Inc.比较结果)

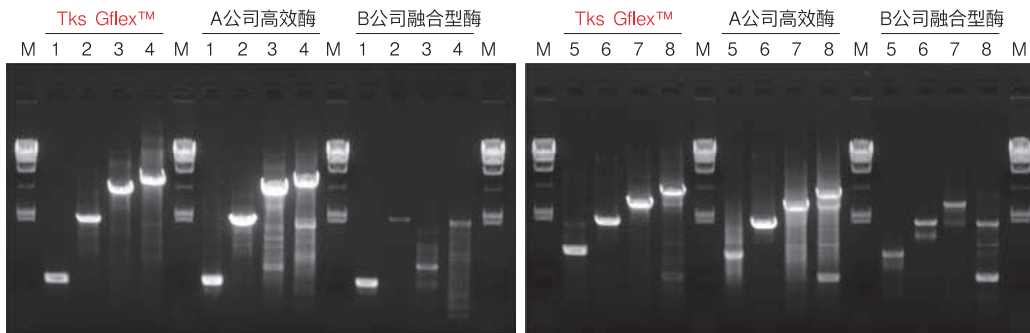
# GC rich / AT rich目的基因也可以扩增

## 实验例3: GC rich或AT rich目的基因的反应性能

通过在反应缓冲液中添加提高Priming特异性的物质，对于GC rich或AT rich等易发生非特异性扩增的目的基因也显示了很好的反应性，实现了低背景、高特异性的扩增。

### 【GC rich目的基因】

### 【AT rich目的基因】



目的基因

Tth基因组DNA

Lane 1: 0.5 kb(GC 72%)  
 2: 2 kb(GC 74%)  
 3: 4 kb(GC 73%)  
 4: 5 kb(GC 73%)

人基因组DNA

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: 各个酶的推荐条件

Tks Gflex™ 的PCR条件:

GC rich    94°C 1 min  
 ↓  
 98°C 10 sec  
 68°C 30 sec/kb    } 30 cycles

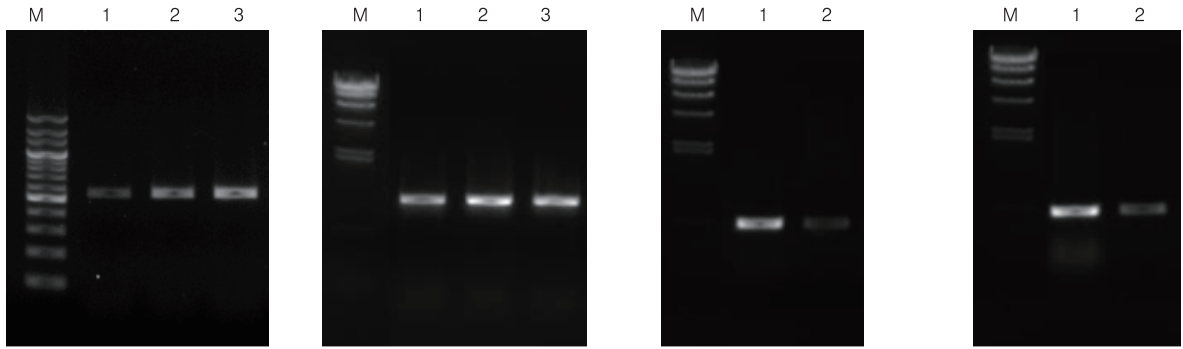
AT rich 94°C 1 min  
 ↓  
 98°C 10 sec  
 60°C 15 sec  
 68°C 30 sec/kb    } 30 cycles

(Takara Bio Inc.比较结果)

## 粗提样品起始的扩增

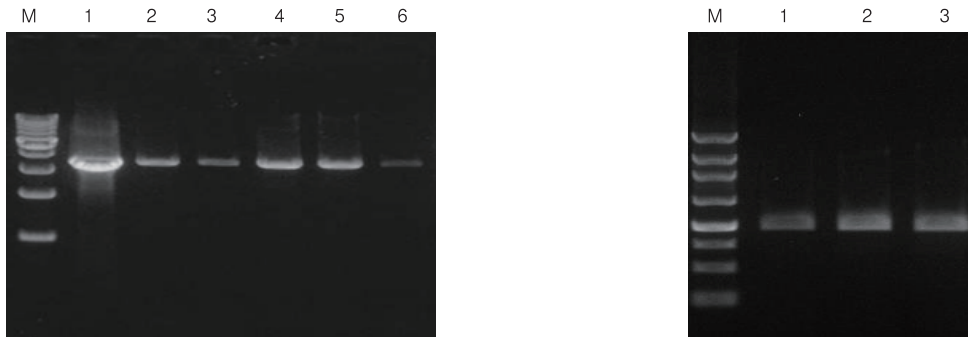
使用Tks Gflex™可对通过Lysis Buffer简易提取的粗提样品进行高灵敏度且特异性良好的扩增。高通量实验体系也推荐使用。

### 实验例4：小鼠组织来源提取液的扩增



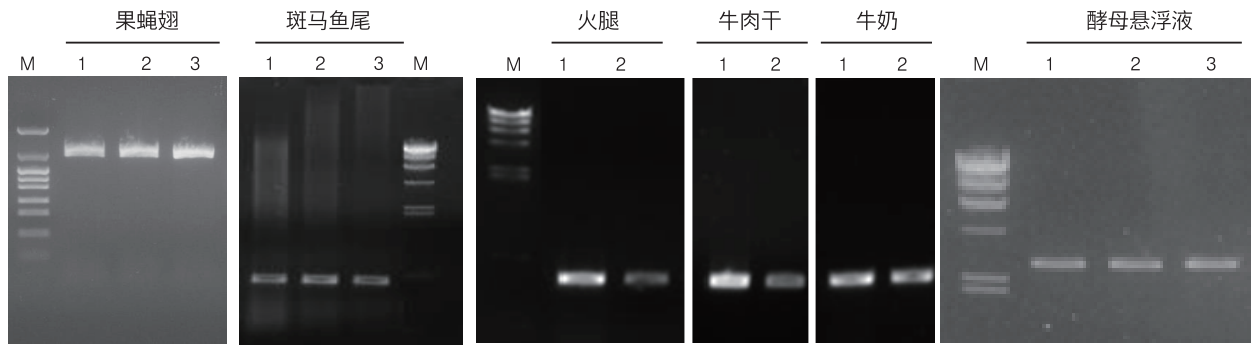
样品	小鼠尾提取液	小鼠脑提取液	小鼠肺提取液	小鼠肝脏提取液
目的基因	<i>Rever2</i> (1.1 kb)	<i>Rever2</i> (1.1 kb)	<i>Hbb-b1</i> (542 bp)	<i>Hbb-b1</i> (542 bp)
模板量 (裂解量 /50 μl反应液)	1: 0.8 μl 2: 2.0 μl 3: 5.0 μl M: 200 bp DNA Ladder	1: 2.5 μl 2: 1.0 μl 3: 0.4 μl M: λ- <i>Hind</i> III digest	1: 2.0 μl 2: 0.4 μl M: λ- <i>Hind</i> III digest	1: 2.0 μl 2: 0.4 μl M: λ- <i>Hind</i> III digest
PCR 条件	94°C 1 min ↓ 98°C 10 sec 60°C 15 sec 68°C 1 min 30 cycles	94°C 1 min ↓ 98°C 10 sec 60°C 15 sec 68°C 1 min 30 cycles	94°C 1 min ↓ 98°C 10 sec 60°C 15 sec 68°C 30 sec 30 cycles	94°C 1 min ↓ 98°C 10 sec 60°C 15 sec 68°C 30 sec 30 cycles

### 实验例5：植物组织来源提取液的扩增



样品	温州蜜桔各部位提取液	番茄叶提取液
目的基因	<i>Psy1</i> (约3.5 kb)	<i>cox1</i> (1 kb)
模板量 (裂解液量 /25 μl反应液)	1: 叶片纯化DNA 2: 叶 (φ2 mm) 裂解液 3: 果皮 (φ2 mm) 裂解液 4: 枝 (1.2 mm) 裂解液 M: 1 kb DNA Ladder	5: 果实 (φ2 mm) 裂解液 6: 薄皮 (φ2 mm) 裂解液 M: 1 kb DNA Ladder 各使用1.25 μl
PCR 条件	94°C 1 min ↓ 98°C 10 sec 60°C 15 sec 68°C 1 min/kb 30 cycles	94°C 1 min ↓ 98°C 10 sec 60°C 15 sec 68°C 1 min 30 cycles

■ 实验例6: 其他动物组织来源提取液、加工食品裂解液及酵母悬浮液起始的扩增

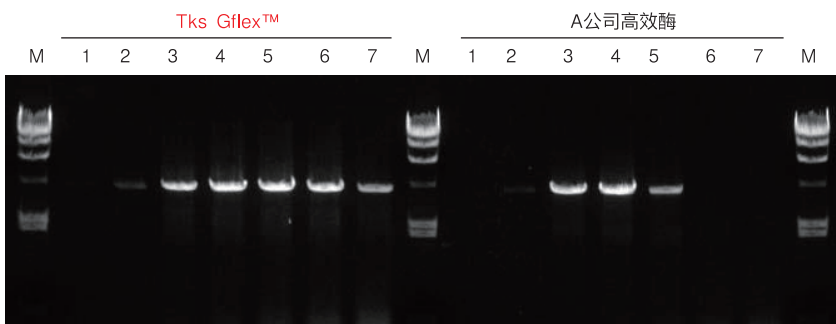


样品	果蝇翅提取液	斑马鱼尾提取液	食品提取液	酵母悬浮液
目的基因	<i>Hsf</i> (1,959 bp)	<i>ba1</i> (466 bp)	线粒体DNA (478 bp)	<i>RAT1</i> (2,901 bp)
模板量	1: 0.8 $\mu$ l 2: 2.0 $\mu$ l 3: 5.0 $\mu$ l M: pHY Marker	1: 2.5 $\mu$ l 2: 1.0 $\mu$ l 3: 0.4 $\mu$ l M: $\lambda$ - <i>Hind</i> III digest	1: 2.0 $\mu$ l 2: 0.4 $\mu$ l M: $\lambda$ - <i>Hind</i> III digest	1~3: 50 $\mu$ l反应体系N=3个克隆PCR M: $\lambda$ - <i>Hind</i> III digest
PCR条件	94°C 1 min ↓ 98°C 10 sec 60°C 15 sec 68°C 2 min 35 cycles	94°C 1 min ↓ 98°C 10 sec 60°C 15 sec 68°C 30 sec 30 cycles	94°C 1 min ↓ 98°C 10 sec 60°C 15 sec 68°C 30 sec 30 cycles	94°C 1 min ↓ 98°C 10 sec 60°C 15 sec 68°C 1 min/kb 30 cycles

可对应宽广的模板量

■ 实验例7: 检测灵敏度、模板添加量的比较

Tks Gflex™通过使用改良型酶能够抑制与过量模板DNA的非特异性结合，相比于其他公司的酶，使用Tks Gflex的模板添加量范围更宽，不仅可以进行微量模板DNA起始的目的基因的扩增，对于表达量很低的低丰度目的基因（由于表达量很低，起始cDNA模板的添加量需增大）的检出，也可以有效地进行扩增。



模板: cDNA (相当于total RNA量) /50  $\mu$ l反应体系

目的基因: Human *TFRC* (4 kb)

Lane1 : 2.5 ng    2 : 25 ng    3 : 250 ng    4 : 500 ng    5 : 750 ng    6 : 1  $\mu$ g    7 : 1.5  $\mu$ g

M :  $\lambda$ -*Hind* III digest

(Takara Bio Inc.比较结果)

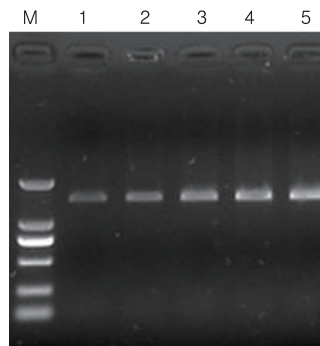
# DNA扩增偏差低

## 实验例8: 能够制备无偏差的文库

进行NGS文库用片段的PCR扩增时, 为降低偏差同时防止嵌合体的生成, 通常是建议减少循环圈数。

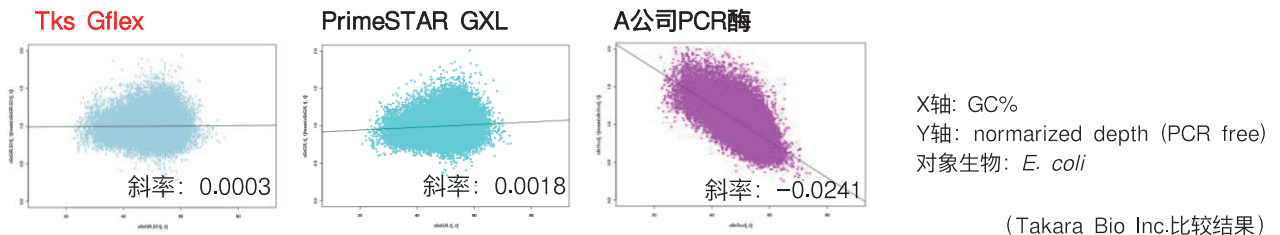
以土壤中细菌提取的DNA为模板, 使用Tks Gflex进行PCR时, 显示使用15个循环就可以得到足够的扩增产物。

通过减少循环圈数, 能够降低扩增偏差。



样品 : 土壤中细菌来源的纯化DNA  
扩增长度 : 1,492 bp  
模板量 : 1: 25 ng 4: 100 ng  
(DNA量 / 25  $\mu$ l反应体系) : 2: 50 ng 5: 125 ng  
3: 75 ng  
M: DL2,000 DNA Marker  
PCR条件: 94°C 2 min  
          ↓  
          94°C 30 sec  
          55°C 30 sec  
          72°C 90 sec } 15 cycles  
          ↓  
          72°C 5 min

大肠杆菌基因组文库使用各PCR酶扩增后, 使用GA IIx (Illumina公司) 进行测序分析。结果显示, 与未进行PCR扩增的文库相比, Tks Gflex能够不受GC含量影响对文库进行均一的扩增。



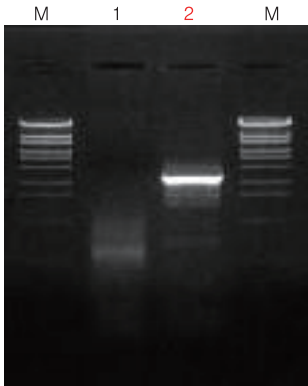
★ 面向Illumina公司MiSeq的16S rRNA细菌丛分析用PCR扩增试剂盒 (Code No. R161A) 也使用Tks Gflex。

## Tks Gflex™参考文献

- PTB-Associated Splicing Factor (PSF) cDNA克隆用参考文献  
Tsukahara T, Haniu H, and Matsuda Y.  
PTB -Associated Splicing Factor (PSF) is a PPAR  $\gamma$ -Binding Protein and Growth Regulator of Colon Cancer Cells. *PLoS One*. 2013; **8**:e58749.
- TCR  $\beta$  链的再合成分析扩增用参考文献  
Iguchi T, Aoki K, Ikawa T, Taoka M, Taya C, Yoshitani H, Toma-Hirano M, Koiwai O, Isobe T, Kawamoto H, Masai H, and Miyatake S.  
BTB-ZF Protein Znf131 Regulates Cell Growth of Developing and Mature T Cells. *J Immunol*. 2015 Aug 1; **195**(3): 982-993.
- 使用粪便纯化的DNA进行16S rRNA细菌丛分析时制备NGS文库用参考文献  
Murakami S, Goto Y, Ito K, Hayasaka S, Kurihara S, Soga T, Tomita M, and Fukuda S.  
The Consumption of Bicarbonate-Rich Mineral Water Improves Glycemic Control. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015; 2015: 824395
- 使用果蝇肠纯化的DNA进行16S rRNA细菌丛分析时制备NGS文库用参考文献  
Sekihara S, Shibata T, Hyakkendani M, and Kawabata SI.  
RNA Interference Directed against the Transglutaminase Gene Triggers Dysbiosis of Gut Microbiota in *Drosophila*. *J Biol Chem*, 2016; **291**(48): 25077-25087
- 使用藻类粗提液进行PCR, 筛选基因编辑株用参考文献  
Nomura T, Sakurai T, Osakabe Y, Osakabe K, and Sakakibara H.  
Efficient and Heritable Targeted Mutagenesis in Mosses Using the CRISPR/Cas9 System. *Plant Cell Physiol*. 2016; **57**(12): 2600-2610. doi: 10.1093/pcp/pcw173



## 用户实验例-1. 小鼠尾粗提液起始的基因扩增



1: A公司高效PCR酶  
2: Tks Gflex DNA Polymerase  
M: λ/Sty I marker

样品 : 小鼠尾粗提液  
目的基因 : 未公开  
扩增大小 : 约2 kb  
GC含量 : GC rich  
PCR条件 : 98°C 10 sec  
60°C 15 sec  
68°C 50 sec } 30 cycles

数据提供:  
东京大学医学研究所 炎症免疫学分部  
佐藤 慎太郎先生  
现隶属大阪大学微生物病研究所·BIKEN下一代疫苗协同研究所·粘膜疫苗项目组。隶属变更后也依然喜欢使用Tks Gflex。

粗提样品

GC rich · AT rich

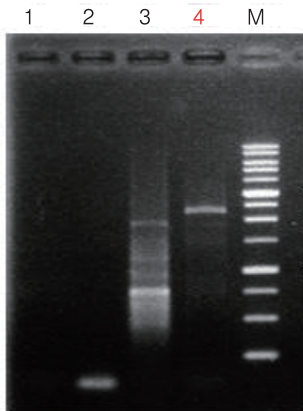
### 实验结果·感想

以往使用A公司的高效酶，但是由于本次扩增的目的基因GC含量较多，该酶未能很好的扩增。于是尝试使用了Tks Gflex，很好的扩增了目的基因。

### ▼ Point ! ▼

本次实验例包含了粗提样品和GC rich两个PCR扩增困难因素，只有Tks Gflex成功扩增了目的基因。

## 用户实验例-2. 水稻Os12g37570基因的克隆



1: A公司酶 2: B公司酶  
3: C公司酶  
4: Tks Gflex DNA Polymerase  
M: 其他公司1Kb DNA Ladder

样品 : 水稻(日本晴)叶来源cDNA  
目的基因 : Os12g37570  
扩增片段 : 2,277 bp  
GC含量 : 50.5% (局部含连续的GC)  
PCR条件 : 94°C 1 min  
↓  
98°C 10 sec  
68°C 2.5 min } 30 cycles  
↓  
68°C 5 min

※各酶的推荐反应组成中添加终浓度5%的DMSO。

数据提供:  
神户大学大学院农学研究科  
细胞机能控制学研究室  
松冈 大介先生、高冈 翔平先生、南森 隆司先生

GC rich · AT rich

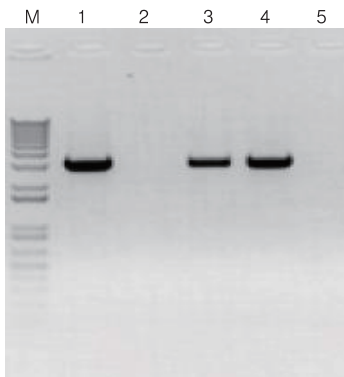
### 实验结果·感想

进行Os12g37570基因克隆时总得不到全长的基因，很是烦恼，尝试使用了贵公司的Tks Gflex™ DNA polymerase顺利的克隆了全长，非常感谢。

### ▼ Point ! ▼

目的基因整体的GC含量虽不高，但含有局部GC含量高的序列，扩增全长时也会很困难。Tks Gflex对于含有各种扩增困难因素的目的基因，都能够有效的进行扩增。

## 用户实验例-3. 使用小鼠ES细胞的粗提样品筛选同源重组的方法



M: 其他公司wide range DNA Ladder  
1~5: 克隆A~E  
(其它克隆体结果省略)

样品 : 小鼠ES细胞粗提液  
目的基因 : 非公开  
扩增片段 : 3,053 bp  
GC含量 : 48%  
PCR条件 : 94°C 1 min  
↓  
98°C 10 sec  
60°C 15 sec  
68°C 180 sec } 30 cycles

数据提供:  
东京大学医学研究所  
干细胞治疗研究中心 干细胞治疗分部  
水野 直彬先生、山口 智之先生

粗提样品

高通量

### 实验结果·感想

使用Lysis Buffer和Tks Gflex通过crude PCR确认了103个克隆中的10个克隆获得了同源重组ES细胞株

### ▼ Point ! ▼

进行重组菌株的PCR筛选等高通量的实验反应时，确认各个反应的适宜反应条件不仅费时费力且很困难。Tks Gflex使用相同的条件进行PCR也可以得到稳定的结果，是【不需要确认适宜反应条件】的PCR酶。

## 产品列表

制品名称	概要	Code No.	包装量
Tks Gflex™ DNA Polymerase	高成功率PCR, 可对GC or AT rich 模板、长片段、粗提样品等进行扩增, 适用于Hot Start PCR	R060Q	50 U (40 次) ※1
		R060A	250 U (200 次) ※1
		R060B (A × 4)	1,000 U (800 次) ※1

※1: 50 μl 反应体系的反应次数。

## 关联产品

制品名称	概要	Code No.	包装量
Tks Gflex™ DNA Polymerase Low DNA	利用Takara特别开发的精制技术和DNA失活技术, 是能够有效抑制外部混入DNA的预混型PCR酶。对于环境样品起始的宏基因组的扩增及单细胞起始的PCR扩增尤为适用。	R091S	20 μl 反应 × 20 次
		R091A	20 μl 反应 × 100 次
Lysis Buffer for PCR	可以从小鼠尾等动物组织及植物组织、加工食品等简便制备粗提裂解液的试剂, 尤其适用于Tks Gflex用模板裂解液的制备。	9170A	20 ml
MightyPrep reagent for DNA		9182S	2 ml
		9182	20 ml
16S (V3-V4) Metagenomic Library Construction Kit for NGS	本制品是使用Illumina公司MiSeq对细菌丛16S rRNA进行解析时使用的PCR扩增试剂盒。以细菌16S rRNA基因的V3-V4区域为对象, 使用对多样序列能有效扩增的PCR酶Tks Gflex™ DNA Polymerase进行扩增。	R161A	50 次
		R161B	100 次
Proteinase K	高活性的丝氨酸蛋白酶。	9034	5 ml

关注Takara微信和微博,  
好礼常常有!



Takara微信



Takara微博



Takara官网

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: 辽宁省大连市经济技术开发区东北二街19号  
电话: 0411-87621671

- 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5月1日的信息, 最新信息请参考公司官网。

Ver.1 2021年5月印刷 2K