

# 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
  - 各 PCR 酶在使用上的区分 . . . . . 2
- 特别介绍
  - 已经试用过 Hot Start Version 吗? . . . . . 3
  - Takara 引以自傲的 PCR 技术介绍 . . . . . 4
  - NGS(新一代测序)用途 PCR 酶选择指南 . . . . . 5
- Tks Gflex™ DNA Polymerase
  - Tks Gflex™ DNA Polymerase . . . . . 7
  - Tks Gflex™ DNA Polymerase Low DNA . . . . . 9
- PrimeSTAR® 系列
  - PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase . . . . . 11
  - PrimeSTAR® Max DNA Polymerase . . . . . 13
  - PrimeSTAR® HS DNA Polymerase . . . . . 14
  - 关联产品介绍 – 克隆的相关产品 – . . . . . 15
- Taq 酶系列
  - *TaKaRa Ex Taq®* . . . . . 17
  - *TaKaRa LA Taq®* . . . . . 19
  - SpeedSTAR™ HS DNA Polymerase . . . . . 21
  - *TaKaRa Taq™* . . . . . 22
  - *TaKaRa Taq™* HS Perfect Mix . . . . . 23
  - *TaKaRa Taq™* HS Low DNA . . . . . 24
  - 关联产品介绍
    - TaKaRa Taq™* HS PCR UNG plus . . . . . 25
    - Multiplex PCR Assay Kit Ver.2 . . . . . 26
    - TaKaRa EpiTaq™* HS(for bisulfite-treated DNA) . . . . . 27
- MightyAmp™ 系列
  - MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.3 . . . . . 29
  - MightyAmp™ Genotyping Kit . . . . . 30
- Dye Plus PCR 用 Premix 试剂
  - Premix™ 系列 plus dye 产品 . . . . . 33
  - EmeraldAmp® MAX PCR Master Mix . . . . . 34
  - EmeraldAmp® PCR Master Mix . . . . . 36
  - SapphireAmp® Fast PCR Master Mix . . . . . 36
- RT-PCR Kit . . . . . 37
- 实验应用(实验例 1~6) . . . . . 40
- Q&A – 为了顺利进行 PCR 扩增 – . . . . . 44
- End Point PCR 扩增仪 . . . . . 48

## 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 or 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  
可抑制酶中残留 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 & 长链 PCR

PrimeSTAR® GXL 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® Max DNA Polymerase  
追求高保真性和高速反应性

PrimeSTAR® HS DNA Polymerase  
注重成本

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 阻碍物含量较多的粗提样品, 或 GC Rich、AT Rich 的模板均可有效扩增。

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, 反应性能高。  
是含有比重剂的完全预混型制品。

同时推荐...

EmeraldAmp® 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。



## 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）

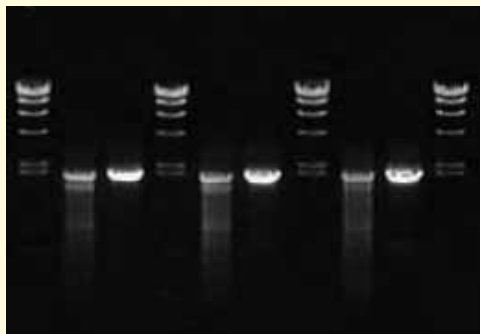
#### 丰富的制品群

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）。



M N HS M N HS M N HS M  
实验者A 实验者B 实验者C

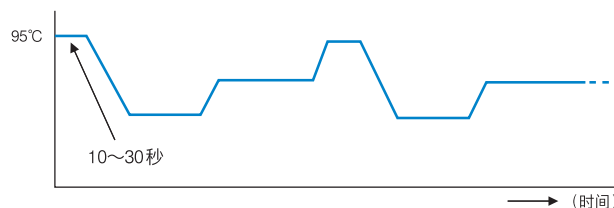
模板 : Human genomic DNA  
Target : *DCLRE1A* (2 kb)  
装置 : Thermal Cycler Dice™ Standard  
PCR 条件: 98°C 10 sec. } 30 Cycles  
55°C 30 sec. }  
72°C 2 min. }

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

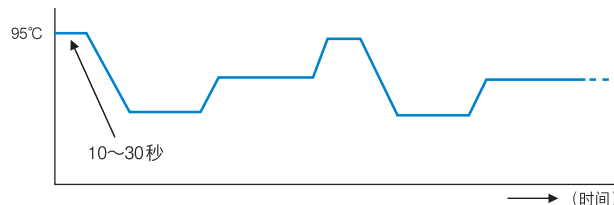
★ 使用Hot Start Version可以很好地抑制非特异性扩增。

### 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

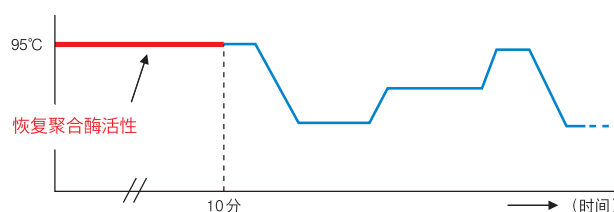


#### ◆ 使用抗体型Hot Start PCR酶时的PCR条件



可以使用与普通酶完全相同的条件!

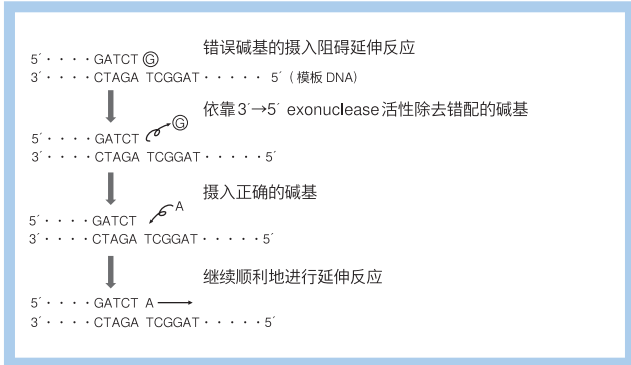
#### ◆ 使用化学修饰型Hot Start PCR酶的PCR条件



化学修饰型酶要增加加热变性步骤，使反应时间大幅增加。

Takara引以自傲的PCR技术介绍

■ LA PCR技术

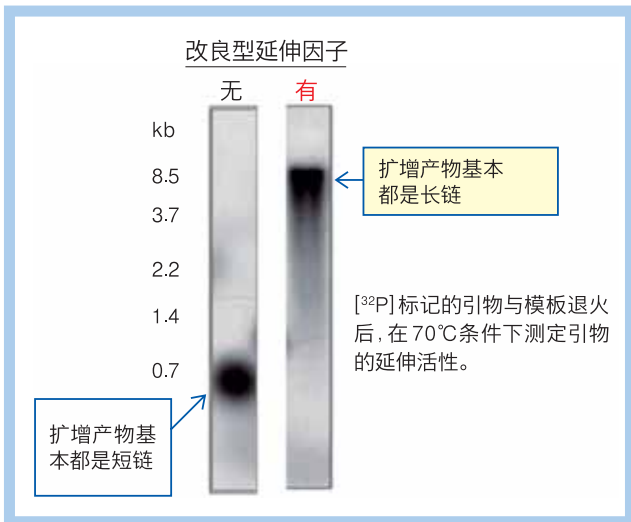


Pol I 型酶 (Taq Polymerase) 不具有校正活性, 不能将错配的碱基除去。  
Pol I 型酶与具有 3'→5' exonuclease 活性 (校正活性) α 型酶混合后, α 型酶可将 Pol I 型酶摄入的错配碱基瞬间除去后再开始合成 DNA。因此提高了反应效率, 可进行长链扩增。

采用了 LA PCR 技术的代表性 PCR 酶

- TaKaRa Ex Taq® (p17)
- TaKaRa LA Taq® (p19)
- EmeraldAmp® MAX PCR Master Mix (p34)

■ 改良型延伸因子



Takara对嗜嗜热性古细菌的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, 诞生了以往α型酶无法实现的具有优良延伸性的PCR酶。

采用了改良型延伸因子的代表性PCR酶

- Tks Gflex™ DNA Polymerase (P7)
- PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase (P11)
- PrimeSTAR® Max DNA Polymerase (P13)

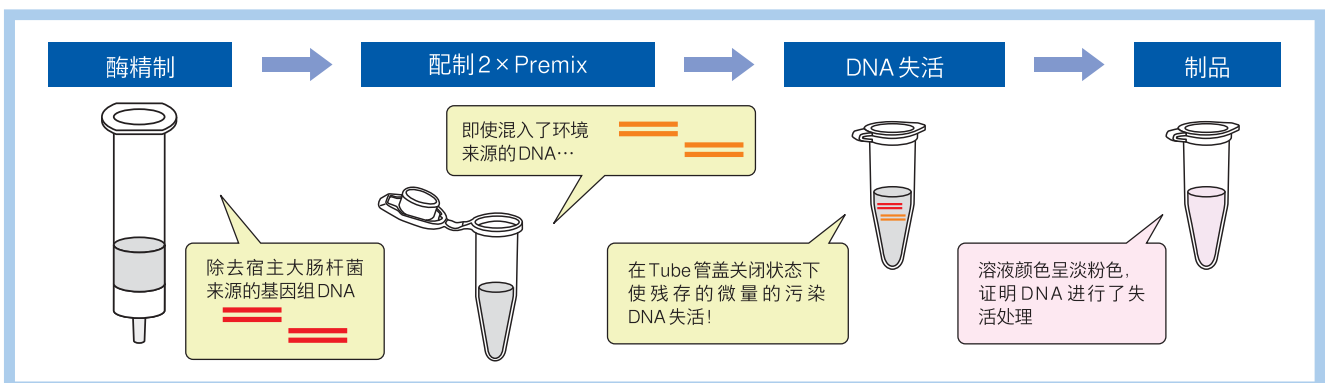
■ 特别的提取技术和DNA失活技术

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 (p24)
- Tks Gflex™ DNA Polymerase Low DNA (p9)



## 特别介绍(3)

### NGS用途 PCR酶选择指南

在新一代测序(NGS)技术中,PCR反应是一个非常重要的技术环节。Takara为您准备了适用于各种NGS的PCR酶,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扩增等选择PCR酶。

推荐指数用★表示: ★★★为最佳!

产品名	文库扩增	长链扩增子测序	高保真扩增子测序	16S菌群解析	单细胞DNA测序	单细胞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	★★★	★★★	★★	★★	★★	★★
MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.2	★★	★	★	★★	★★	★★★※

※用于单细胞测序(Quartz-Seq) ( Y.Sasagawa *et al.*, *Genome Biology* 2013, 14:R31)

#### <NGS工作流程>



适用于16S菌群分析

TaKaRa Taq™ HS Low DNA

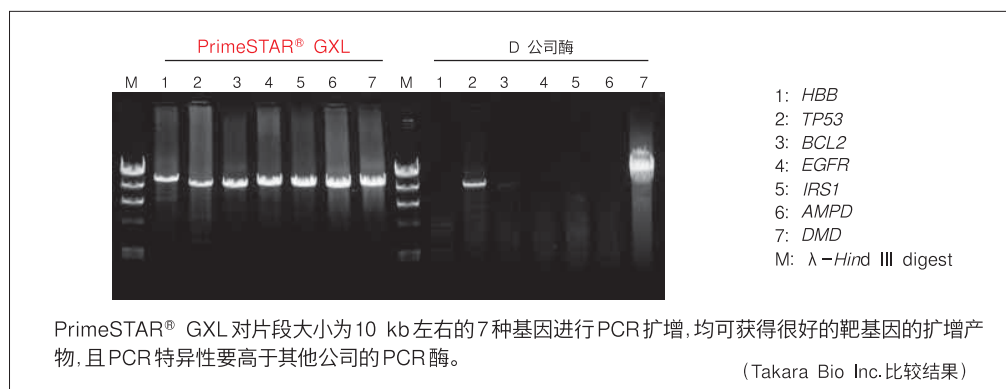
可进行单细胞扩增

Tks Gflex™ DNA Polymerase Low DNA

高保真扩增长链DNA&高覆盖率

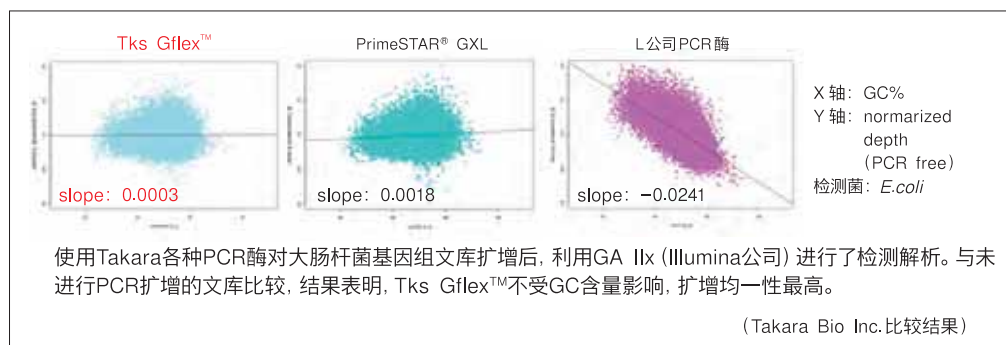
PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase

详情请参考各制品所在页



文库制作无扩增偏好性

Tks Gflex™ DNA Polymerase



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

集结了Takara技术的PCR酶

# Tks Gflex™ DNA Polymerase

高成功率

难以扩增的序列

粗提样品

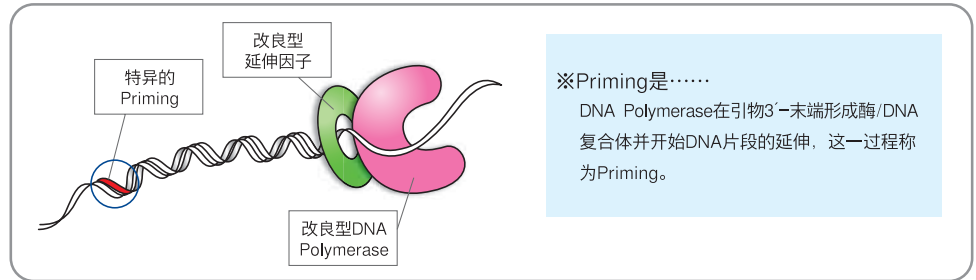
Tks Gflex™ DNA Polymerase是在 *Thermococcus* 属古细菌来源的DNA Polymerase的基础上改良的PCR聚合酶，可以有效地抑制非特异性扩增。与特别开发的改良型延伸因子结合。PrimeSTAR®系列酶也采用本公司特别研发的延伸因子，大大提高了延伸性及反应速度。

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。

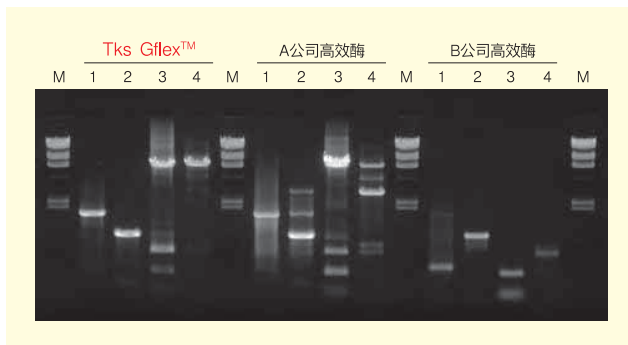
**【扩增片段的标准】**

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  
2: *B. subtilis AprE* 1.1 kb  
3: pRetroX-G1-Red 7.2 kb  
4: pBeloBAC11 7.5 kb  
M: λ-Hind III digest

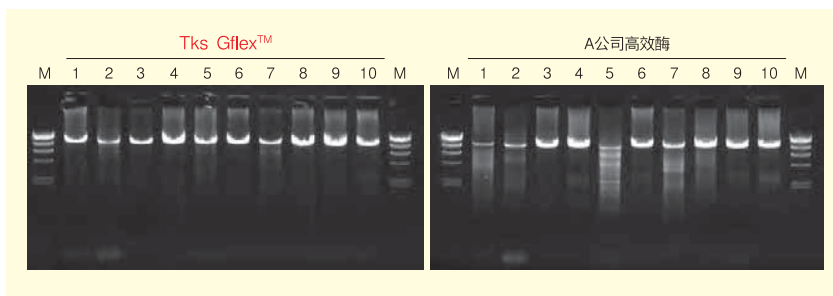
反应液组成及PCR反应条件: 各酶的推荐条件

Tks Gflex™的PCR条件:		3 & 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: *HBB* 5: *TFRC* 9: *AMPD*  
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	

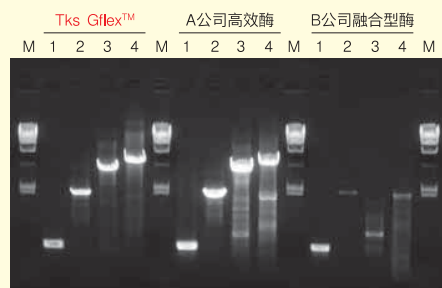
(Takara Bio Inc.比较结果)



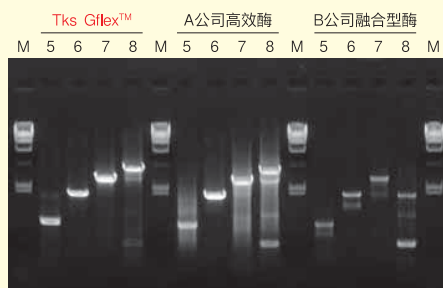
## GC rich 或 AT rich 的目的基因反应性能的比较

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: *Tth* genomic DNA

扩增片段大小:

- Lane 1: 0.5 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:  $\lambda$ -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:

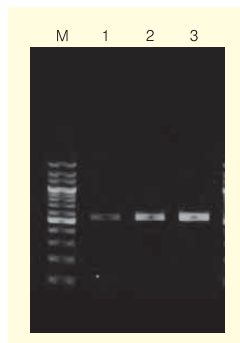
GC rich 94°C 1 min.  
↓  
98°C 10 sec.  
68°C 30 sec./kb } 30 Cycles

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

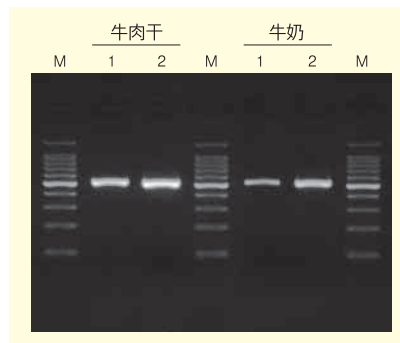


样品: 小鼠尾 2 mm  
目的基因: mouse *Raver 2* (1.1 kb)  
模板量 (粗提裂解液量 / 25  $\mu$ l 反应液):  
Lane 1: 0.4  $\mu$ l  
2: 1.0  $\mu$ l  
3: 2.5  $\mu$ l  
M: 200 bp DNA Ladder

PCR 条件 (实验例 A, B):

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

### (B) 加工食品粗提裂解液的扩增



样品:  
牛肉干 20 mm<sup>3</sup>  
牛奶 20  $\mu$ l

目的基因:  
牛线粒体 DNA *cox1* (0.5 kb)

模板量

(粗提裂解液量 / 20  $\mu$ l 反应液):  
Lane 1: 0.4  $\mu$ l  
2: 2.0  $\mu$ l  
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	9182	20 ml
	9182S	2 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

可对单细胞进行PCR扩增的高品质Low DNA型

# Tks Gflex™ DNA Polymerase Low DNA

Low DNA型

特异性扩增

**【扩增片段的标准】**

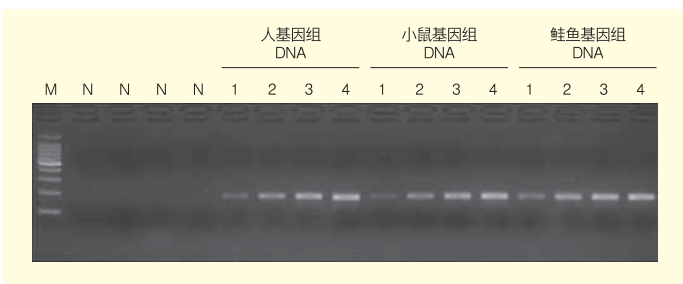
λ DNA: ~30 kb  
Human genome DNA: ~20 kb

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酶难扩增的单细胞进行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

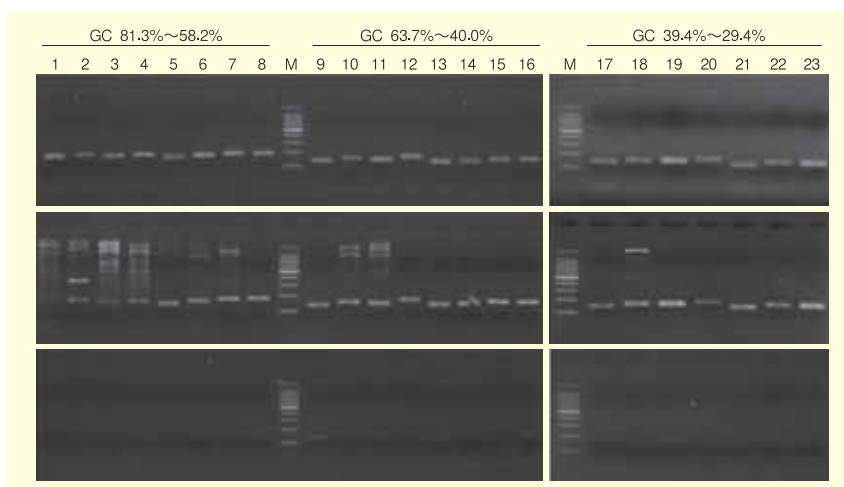
Lane N: No template  
1: 1 cell 相当  
2: 10 cells 相当  
3: 10<sup>2</sup> cells 相当  
4: 10<sup>3</sup> cells 相当  
M: 100 bp DNA Ladder

■ 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

# 「便于操作」、「反应性能好」 的高保真PCR聚合酶

## PrimeSTAR® 系列

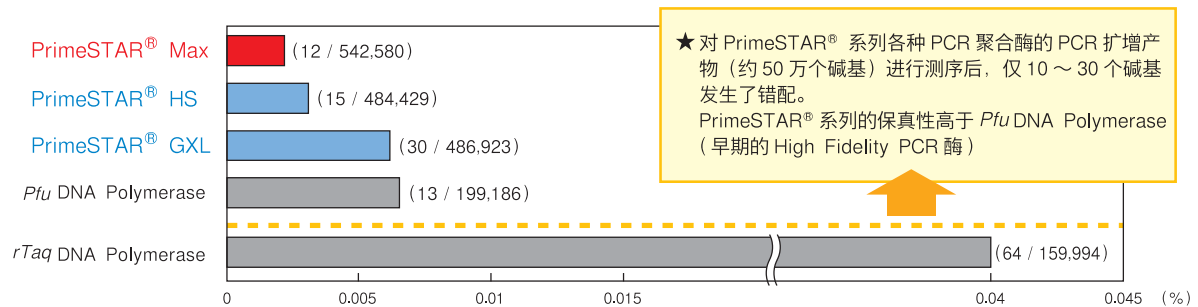
PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase

PrimeSTAR® Max DNA Polymerase

PrimeSTAR® HS DNA Polymerase

### PrimeSTAR® 系列的基本特点

PrimeSTAR® 系列和其他各种PCR用聚合酶的保真性能比较



错配率的计算方法：以 GC rich、易发生碱基突变的 *T.thermophilus* HB8 为模板，任选 10 个区域进行 PCR 扩增后，将各自的 PCR 产物克隆至载体，并对每种序列挑取复数的克隆进行测序确认碱基序列。

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。

高通用性、高保真性、PCR酶的新选择

# PrimeSTAR<sup>®</sup> GXL DNA Polymerase

长链扩增

通用性高

反应速度快

PrimeSTAR<sup>®</sup> GXL DNA Polymerase 是在PrimeSTAR<sup>®</sup> HS DNA Polymerase基础上进行改良的, 可抑制阻害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。

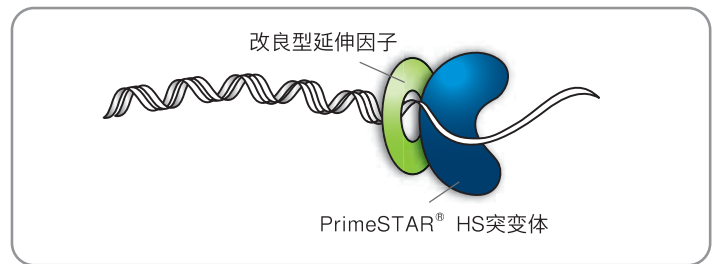
可简单地对以往高保真酶难以扩增的GC rich模板进行PCR扩增、及从高浓度cDNA中检测出低表达量的基因等。

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



## ■ 反应灵敏度和模板使用量范围(同其他公司及2倍酶使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, 因此会经常使用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。

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

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<sup>®</sup> GXL可在宽广的cDNA范围内获得良好的扩增结果。

同时对PrimeSTAR<sup>®</sup> GXL的2倍酶使用量操作流程(延伸时间为10 sec./kb的高速PCR)的模板使用量进行了确认。

结果显示, 同其他公司酶相比, PrimeSTAR<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> 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: *TFRC* 4 kb

模板: HL60 细胞来源的 Total RNA 反转录后获得的 cDNA

模板使用量: cDNA (相当于Total RNA量) 50 μl 反应体系

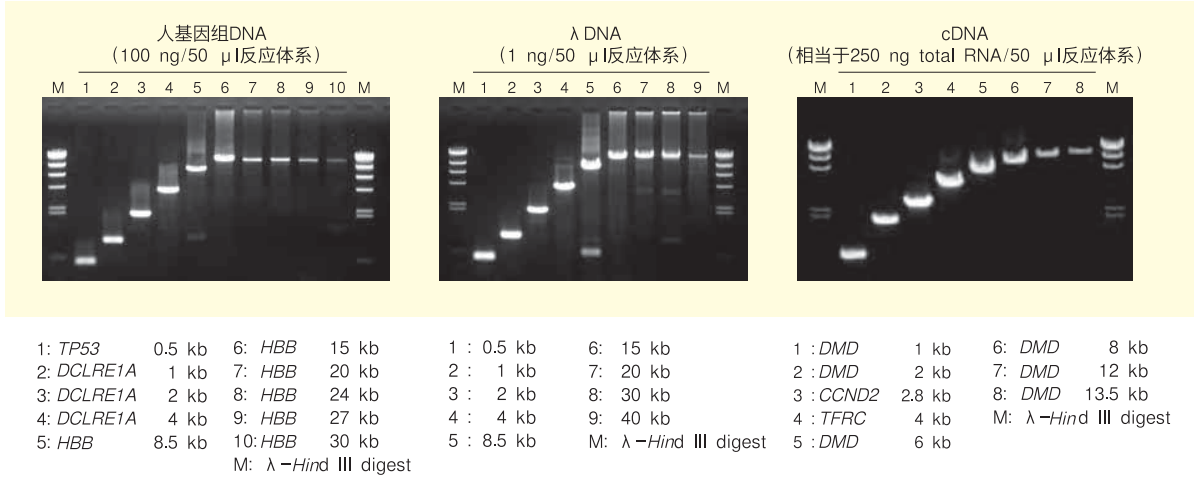
Lane 1: 25 pg      4: 25 ng      7: 750 ng      10: 2 μg  
2: 250 pg      5: 250 ng      8: 1 μg      M: λ-Hind III digest (250 ng/Lane)  
3: 2.5 ng      6: 500 ng      9: 1.5 μg

(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，能够扩增多长的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。

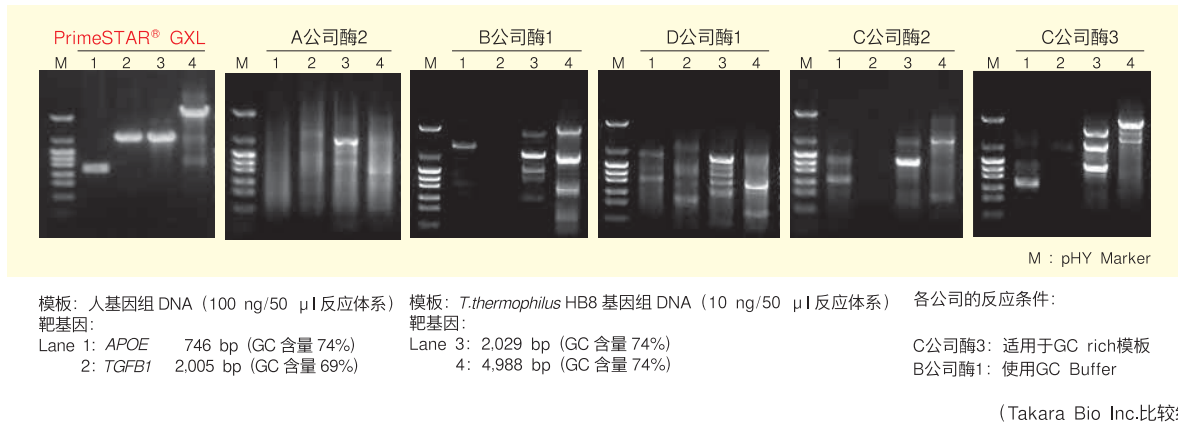


## 扩增GC rich靶基因的反应性 (同其他公司High Fidelity PCR酶进行比较)

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* HB8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 μl 反应 × 40 次
	R050A	50 μl 反应 × 200 次
	R050B (A×4)	50 μl 反应 × 800 次

提供高水平的保真性

# PrimeSTAR<sup>®</sup> Max DNA Polymerase

反应速度快

保真性高

操作简便

PrimeSTAR<sup>®</sup> 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<sup>®</sup>系列产品中保真性最高的DNA聚合酶。

【扩增片段的标准】

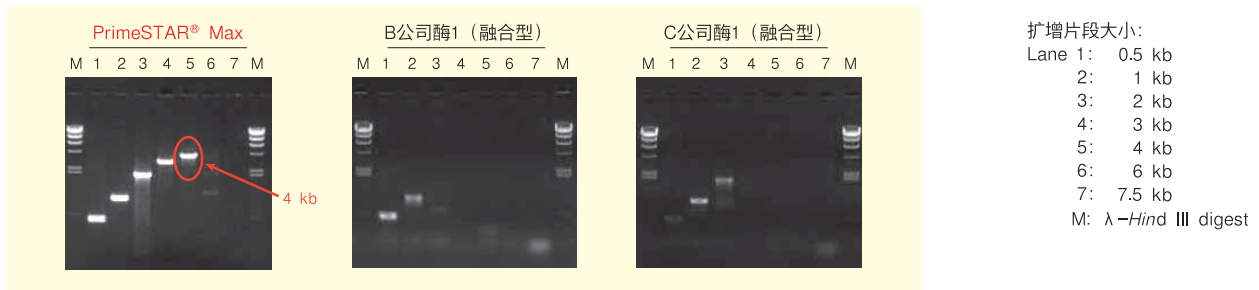
λ DNA: ~15 kb

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<sup>®</sup> 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。

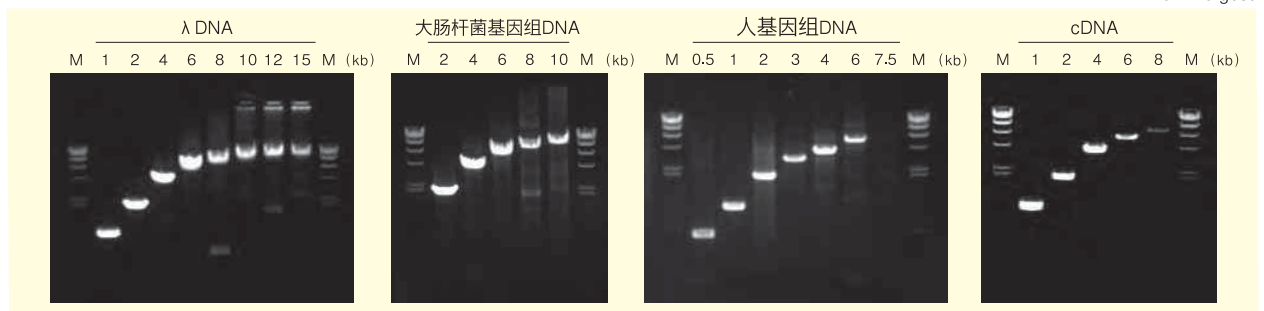


模板: 人基因组DNA 100 ng/50 μl反应体系 PCR反应条件: 3 step、延伸时间10 sec.、30 Cycles

(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<sup>®</sup> 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 <sup>®</sup> 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】**

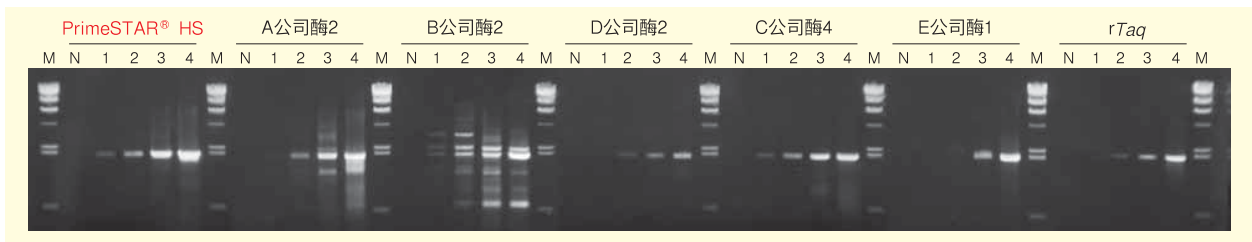
λ DNA: ~28 kb  
Human genome DNA: ~8.5 kb

※ **Priming效率** . . .

DNA Polymerase在引物的3'-末端形成酶/DNA复合体并开始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秒短退火时间内可获得高特异性扩增产物。

## ■ PrimeSTAR® HS和各国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和各国高保真酶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同其他国家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：*DCLRE1A* 基因 (2 kb)

反应液的配制及 PCR 反应条件：使用各国推荐的操作流程

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

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

## ■ 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

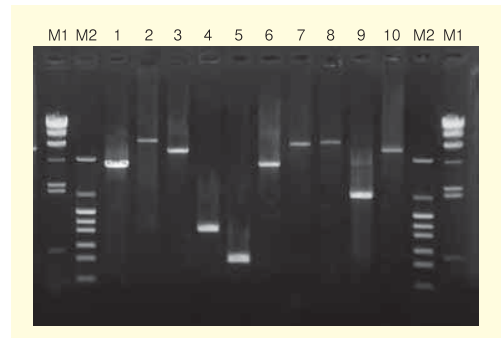
使用PrimeSTAR® HS在同一PCR反应条件下对各种片段大小不同的靶基因进行了PCR扩增反应，结果显示，PrimeSTAR® HS对0.5~8.5 kb的靶基因都可高效率地进行扩增。

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

模板：  
100 ng 人基因组 DNA  
(50 μl 反应体系)

靶基因：

Lane 1: <i>DCLRE1A</i>	4 kb	7: <i>HBB</i>	7.5 kb
2: β-globin	8.5 kb	8: <i>DCLRE1A</i>	8 kb
3: β-globin	6 kb	9: <i>DCLRE1A</i>	2 kb
4: <i>DCLRE1A</i>	1 kb	10: <i>TP53</i>	6 kb
5: <i>TP53</i>	0.5 kb	M1: λ- <i>Hind</i> III digest	
6: <i>TP53</i>	4 kb	M2: pHY Marker	



(Takara Bio Inc.比较结果)

### 【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

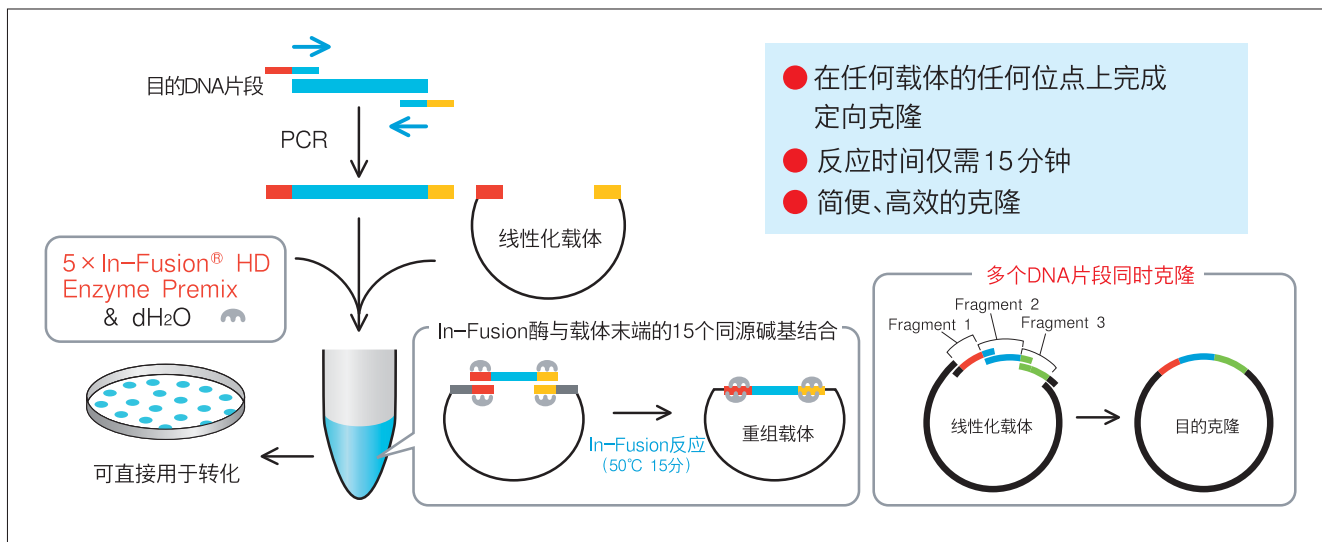
## 简便、高效的定向克隆试剂盒

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

高保真性PrimeSTAR<sup>®</sup>系列与In-Fusion<sup>®</sup>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<sup>®</sup> 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（42页，实验例4）。



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

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」、相关信息等便利的特设网页，欢迎使用。

Online Tools for In-Fusion



## 连接克隆试剂盒

### Blunting Kination Ligation (BKL) Kit

Blunting Kination Ligation (BKL) Kit是一种能使DNA片段的末端平滑化、5' 端的磷酸化、DNA片段和载体的连接等诸多反应高效快速完成的试剂盒。使用本试剂盒时，DNA片段的末端平滑化反应和5' 端的磷酸化反应可在一个反应体系中同时进行，反应时间只需10分钟。此外，本试剂盒中还含有高效的DNA连接液，可在短时间内完成连接反应。

制品名称	Code No.	包装量
Blunting Kination Ligation (BKL) Kit	6127A	24 次

## PrimeSTAR<sup>®</sup> 系列用TA克隆试剂盒

### Mighty TA-cloning Reagent Set for PrimeSTAR<sup>®</sup>

使用PrimeSTAR<sup>®</sup>系列的α型DNA聚合酶进行PCR反应时，因酶本身具有非常强的3' →5' exonuclease活性，扩增产物大多数为平滑末端，不能直接进行TA克隆。因此，PrimeSTAR<sup>®</sup>系列DNA聚合酶的PCR扩增产物需要进行TA克隆时，3' 端必须添加“A”碱基。本试剂盒中含有可简单地在平滑末端PCR产物的3' 端添加“A”碱基的A-overhang mixture和Mighty TA-cloning Kit，可作为PrimeSTAR<sup>®</sup>系列DNA聚合酶扩增产物的TA克隆专用试剂。

制品名称	Code No.	包装量
Mighty TA-cloning Reagent Set for PrimeSTAR <sup>®</sup>	6019	20 次



## 倍受欢迎的PCR基本酶

### Taq酶系列

*TaKaRa Ex Taq*<sup>®</sup>

*TaKaRa LA Taq*<sup>®</sup>

SpeedSTAR<sup>™</sup> HS DNA Polymerase

*TaKaRa Taq*<sup>™</sup>

*TaKaRa Taq*<sup>™</sup> HS Low DNA etc.



具有良好扩增效率和高通用性的畅销PCR酶

# TaKaRa Ex Taq<sup>®</sup> Hot Start Version

## TaKaRa Ex Taq<sup>®</sup>

灵敏度

扩增量

通用性

TaKaRa Ex Taq<sup>®</sup>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<sup>®</sup> 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

### 2017年TaKaRa Ex Taq<sup>®</sup>迎来了销售23周年

Takara的主打基本PCR酶TaKaRa Ex Taq<sup>®</sup>自1994年开始销售以来, 2017年迎来了销售23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。



That's Good Science!

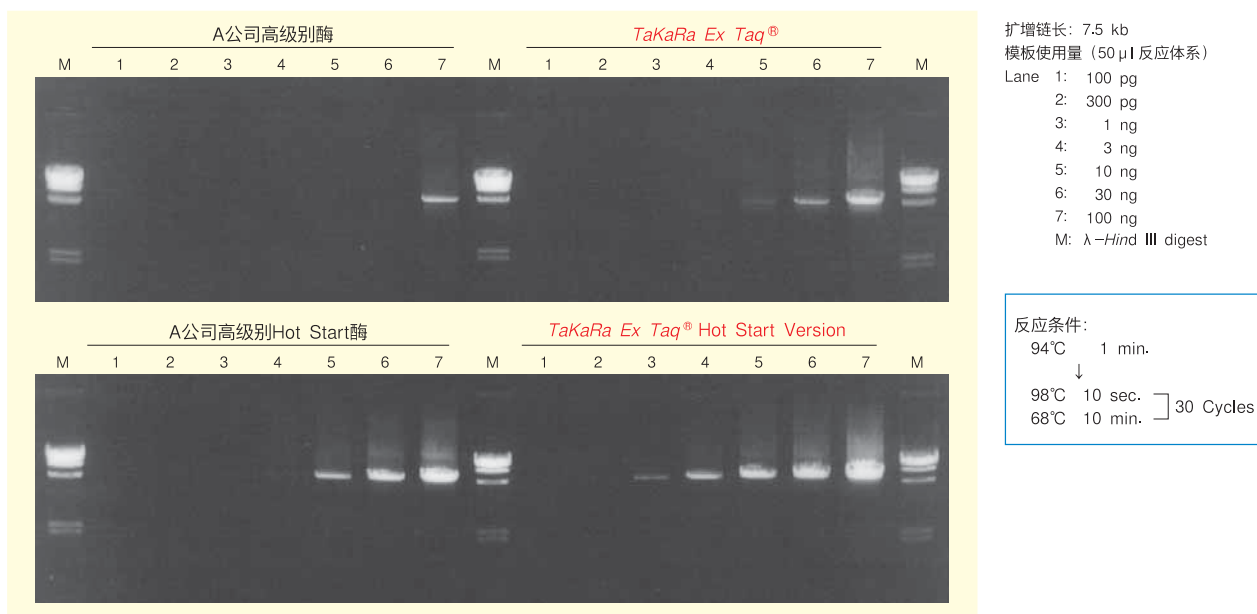


也可以参考网站中视频That's Good Science!™系列中的「Stem Cell」

### 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

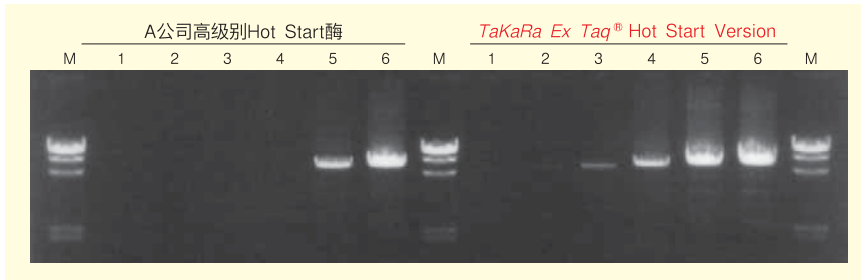
以人基因组DNA为模板, 与其他公司高级别PCR酶的扩增性能进行了比较。结果显示, TaKaRa Ex Taq<sup>®</sup>和TaKaRa Ex Taq<sup>®</sup> Hot Start Version高出1个数量级的灵敏度。



(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。

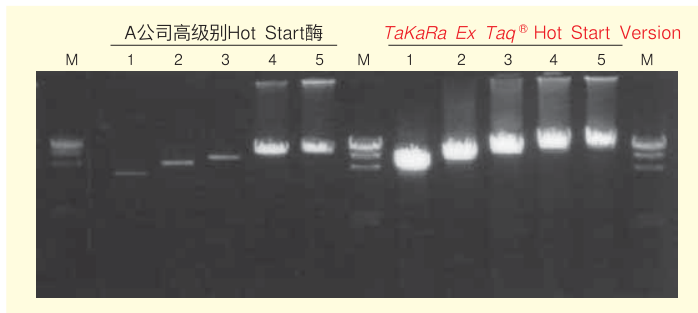


扩增链长: 8 kb  
 模板量 (50 µl 反应体系):  
 Lane 1: 500 fg  
 2: 5 pg  
 3: 50 pg  
 4: 500 pg  
 5: 5 ng  
 6: 50 ng  
 M: λ-Hind III digest

(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。



模板量: 100 pg (50 µl 反应体系)  
 扩增链长:  
 Lane 1: 6 kb  
 2: 8 kb  
 3: 10 kb  
 4: 12 kb  
 5: 15 kb  
 M: λ-Hind III digest

PCR条件:  
 94°C 1 min.  
 ↓  
 98°C 10 sec. } 30 Cycles  
 68°C 8 min.

(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
TaKaRa Ex Taq® (Mg <sup>2+</sup> free Buffer)	RR53A	250 U
	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 <sup>2+</sup> plus)	9152A	1 ml × 10 支
10 × Ex Taq Buffer (Mg <sup>2+</sup> free)	9152AM	1 ml × 10 支

# TaKaRa LA Taq<sup>®</sup> Hot Start Version

## TaKaRa LA Taq<sup>®</sup>

### TaKaRa LA Taq<sup>®</sup> with GC Buffer

长链扩增

扩增量

GC rich 序列<sup>※</sup>

TaKaRa LA Taq<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> 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P20下方带※制品

【扩增片段的标准】

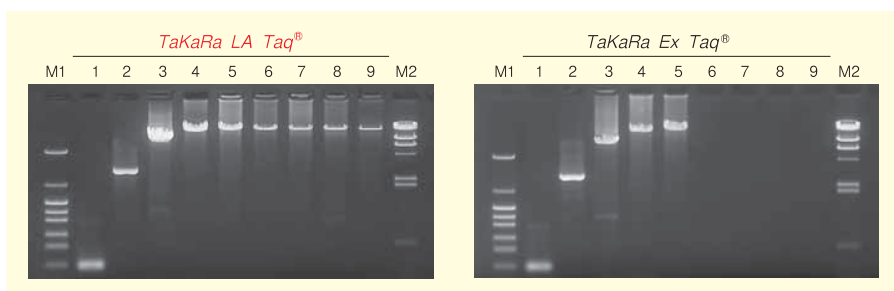
λ DNA: ~40 kb

Human genome DNA: ~30 kb

#### ■ 对于不同长度的目的基因，TaKaRa LA Taq<sup>®</sup>、TaKaRa Ex Taq<sup>®</sup> 的扩增效率比较

1) 以人基因组DNA为模板进行扩增

TaKaRa LA Taq<sup>®</sup> 可扩增 30 kb 的片段、TaKaRa Ex Taq<sup>®</sup> 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

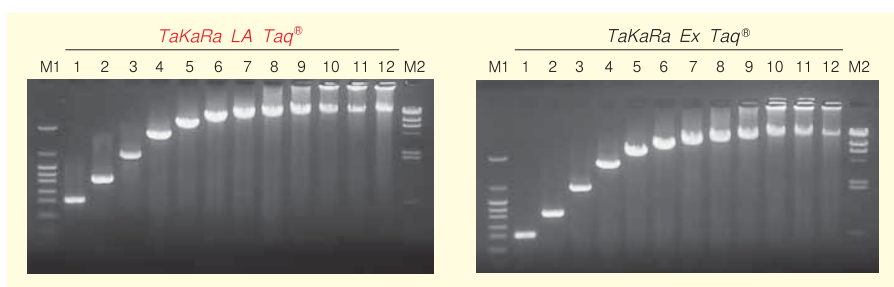
9: 30.8 kb

M1: pHY Marker

M2: λ-Hind III digest

2) 以λ DNA为模板进行扩增

TaKaRa LA Taq<sup>®</sup> 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

1) 以 λ DNA 为模板扩增 28 kb 片段

模板量 (50 μl 反应体系):  
Lane 1: 100 pg  
Lane 2: 10 pg  
Lane 3: 1 pg  
M: λ-Hind III digest

PCR 条件:  
94°C 1 min.  
↓  
98°C 10 sec. } 30 Cycles  
68°C 15 min.  
↓  
72°C 10 min.

(Takara Bio Inc. 比较结果)

2) 以人基因组 DNA 为模板扩增 28.4 kb 片段

模板量 (50 μl 反应体系):  
Lane 1: 1 ng  
Lane 2: 100 pg  
M: λ-Hind III digest

PCR 条件: 同左图

(Takara Bio Inc. 比较结果)

■ 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。)

模板: 人基因组 DNA (100 ng/50 μl 反应体系)  
Target:  
Lane 1: APOE 746 bp (GC 74%)  
Lane 2: TGFB1 2,005 bp (GC 69%)  
M: pHY Marker

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

扩增链长:  
Lane 3: 2,029 bp (GC 74%)  
Lane 4: 4,988 bp (GC 74%)

进行三步法 PCR 反应:  
98°C 10 sec. } 30 Cycles  
60°C 30 sec.  
72°C 1 min./kb

模板: 人基因组 DNA (100 ng/50 μl 反应体系)  
Target:  
Lane 1: APOE 746 bp (GC 74%)  
Lane 2: TGFB1 2,005 bp (GC 69%)  
M: pHY Marker

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

扩增链长:  
Lane 3: 2,029 bp (GC 74%)  
Lane 4: 4,988 bp (GC 74%)

【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®	RR002A/B (A×4)	125 U/500 U
	RR02MQ/MA/MB (A×4)	50 U/125 U/500 U
	RR52A/AM	125 U/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)	RR900Q/A	50 μl 反应 × 20 次/60 次
Premix Taq™ (LA Taq™ Version 2.0 plus dye)	RR903Q/A	50 μl 反应 × 20 次/60 次
10 × LA Taq Buffer II (Mg <sup>2+</sup> plus)	9153A	1 ml × 10 支
10 × LA Taq Buffer II (Mg <sup>2+</sup> free)	9153AM	1 ml × 10 支

可进行长链目的基因扩增的快速PCR酶

# 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。

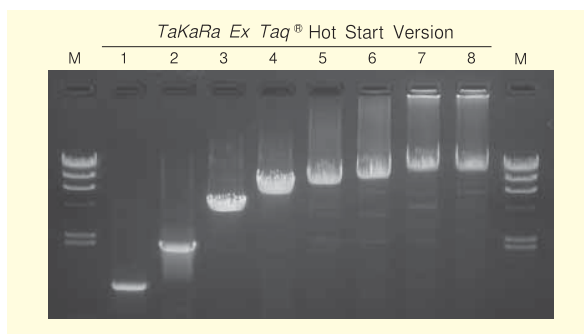
## ■ 反应时间的比较: SpeedSTAR™ HS DNA Polymerase vs. TaKaRa Ex Taq® Hot Start Version



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：约33分  
▪ 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：约53分  
▪ 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：约83分  
▪ 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：约3小时29分



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.  
↓  
98°C 10 sec. ] 30 Cycles  
68°C 2 min. ]  
反应时间：约96分  
▪ 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：约3小时46分  
▪ 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：约5小时46分  
▪ 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：约8小时16分

### 【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

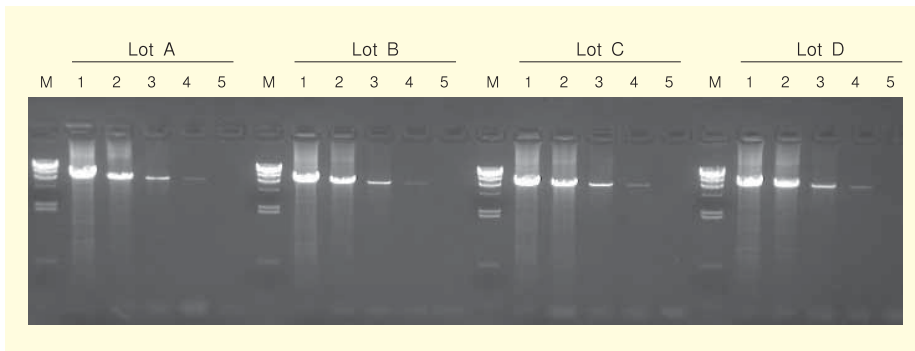
**【扩增片段的标准】**

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 x 4)	50 U/250 U/1,000 U
	R007Z	10,000 U
TaKaRa Taq™	R001A/B	250 U/1,000 U
	R001C (B x 3)	3,000 U
TaKaRa Taq™ (Mg <sup>2+</sup> free Buffer)	R001AM	250 U
	R001BM (AM x 4)	1,000 U
	R001CM (AM x 12)	3,000 U
TaKaRa Taq™	R500A/AM/Z	250 U/250 U/10,000 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 <sup>2+</sup> plus)	9151A	1 ml × 10 支
10 × PCR Buffer (Mg <sup>2+</sup> free)	9151AM	1 ml × 10 支

# TaKaRa *Taq*<sup>TM</sup> HS Perfect Mix

基础酶

快速 PCR

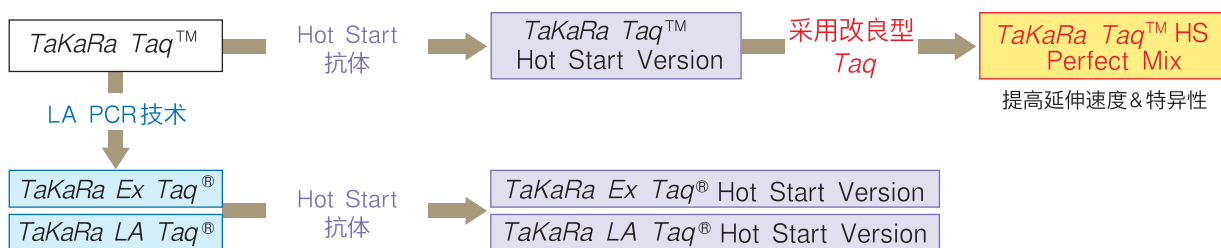
【扩增片段的标准】

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

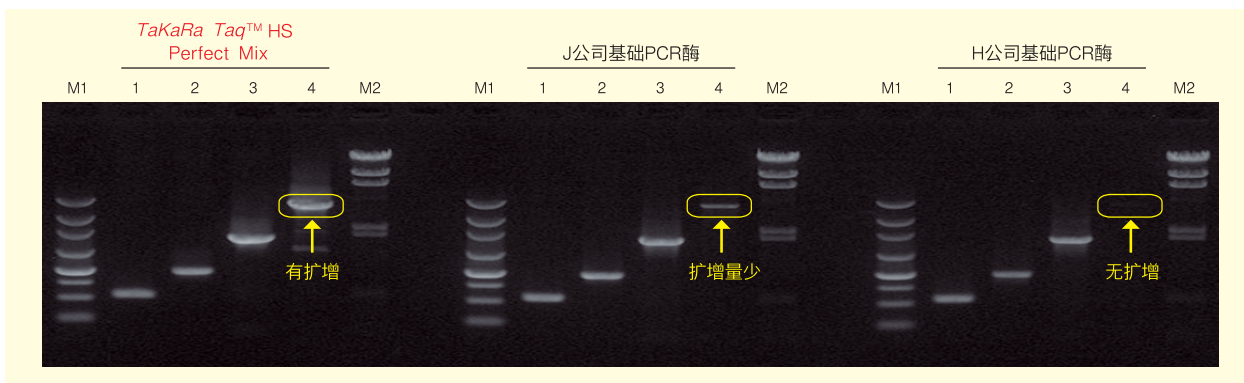
*TaKaRa Taq*<sup>TM</sup> HS Perfect Mix是在*Taq* DNA polymerase基础上改良的具有高延伸速度和高特异性的进化型基础PCR酶。延伸时间可设定为20 sec./kb, PCR反应时间仅需一般基础酶的一半以下即可获得PCR扩增结果。

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*<sup>®</sup>或*TaKaRa LA Taq*<sup>®</sup>。*TaKaRa Ex Taq*<sup>®</sup>及*TaKaRa LA Taq*<sup>®</sup>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*<sup>TM</sup> 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
<i>TaKaRa Taq</i> <sup>TM</sup> 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
<i>TaKaRa Taq</i> <sup>TM</sup> 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



适用于菌群分析的、采用改良型 *Taq* 酶的 Low DNA 型聚合酶

# TaKaRa *Taq*<sup>TM</sup> HS Low DNA

Low DNA 型

检测灵敏度高

【扩增片段的标准】

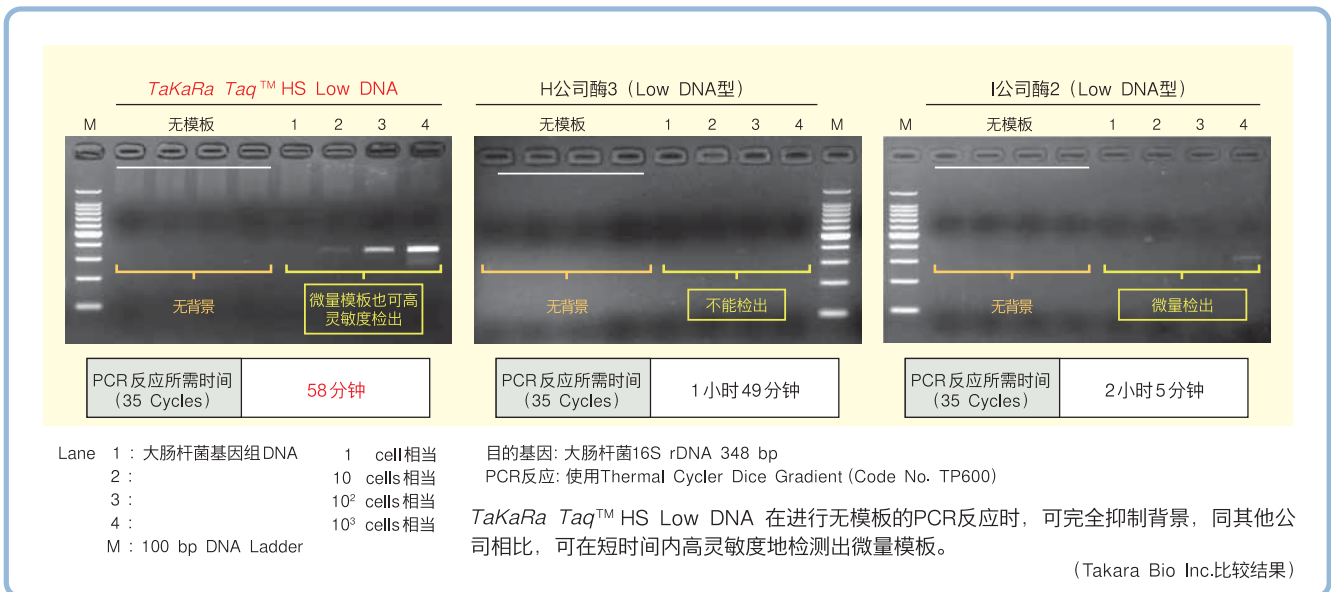
λ DNA: ~12 kb  
Human genome DNA: ~3 kb

*TaKaRa Taq*<sup>TM</sup> 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



## 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*<sup>TM</sup> 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<sup>TM</sup> DNA Polymerase Low DNA  
(参考 p9)

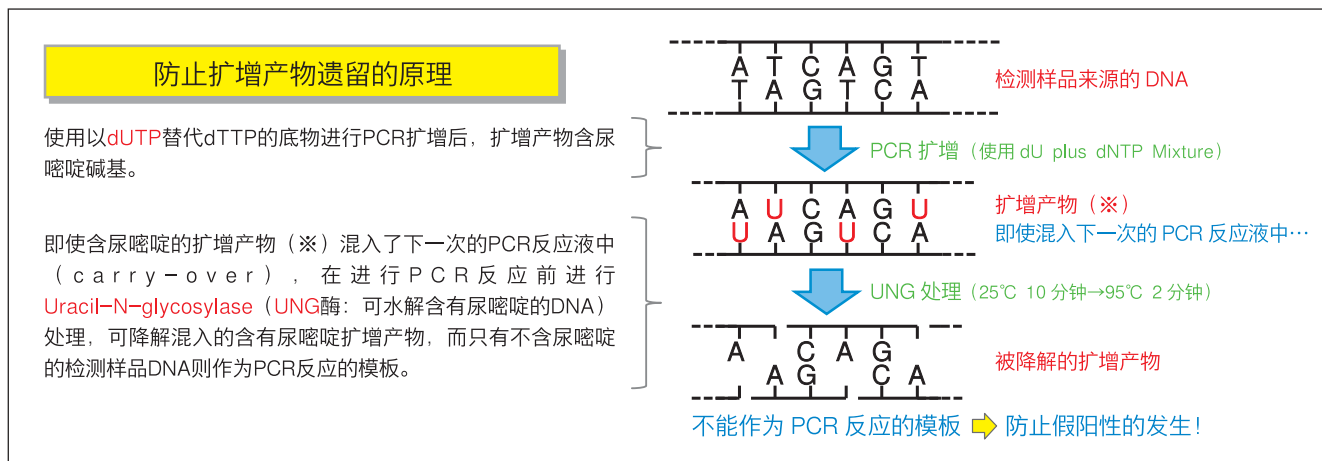
### 【制品一览表】

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

## 防止PCR扩增产物遗留导致的假阳性!

### TaKaRa Taq™ HS PCR Kit, UNG plus

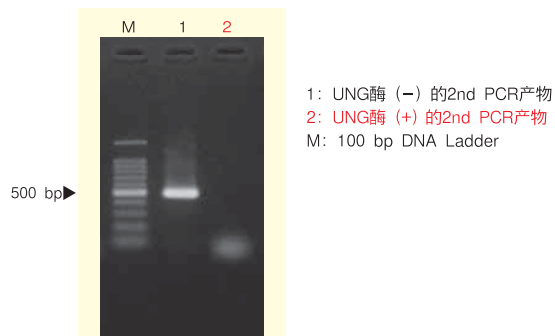
PCR是一种非常敏感的DNA扩增技术，有时先前PCR扩增产物的遗留 (carry-over) 会导致假阳性。使用End-Point PCR方法，特别在食品、环境检查等重复同一种PCR反应时，极易发生PCR扩增产物的污染，有可能对检测结果产生重大的影响。使用 TaKaRa Taq™ HS PCR Kit, UNG plus，可防止重复使用同一种PCR反应时遗留的扩增产物导致的假阳性，提高基因检测的可信度。



#### ■ UNG酶的防止扩增产物污染效果

使用本试剂盒，以 10 ng 人基因组 DNA 为模板，扩增 500 bp 的 DNA 片段 (1st PCR)。再以 2 μl 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)。

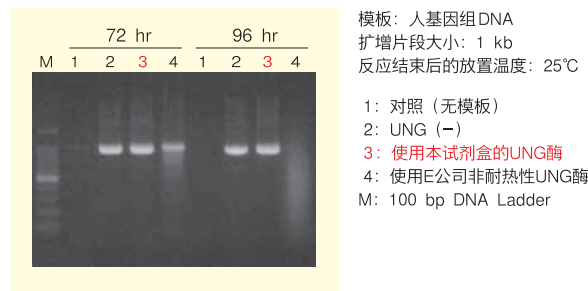
结果显示：UNG 酶 (+) 处理后 1st PCR 的扩增产物被降解，2nd PCR 时无 PCR 扩增产物。证实了 UNG 酶对扩增产物污染的消除效果。



#### ■ PCR扩增产物的稳定性

试剂盒中的非耐热性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扩增产物失活的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】

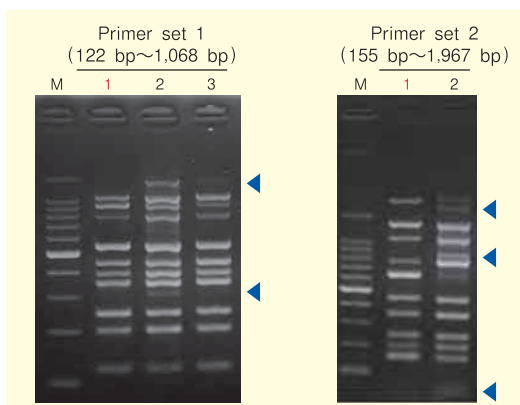
制品名称	Code No.	包装量
TaKaRa Taq™ HS PCR Kit, UNG plus	R013S	50 次
	R013A	200 次
Uracil DNA Glycosylase (UNG),heat-labile	2820	200 U
TaKaRa PCR Carryover Prevention Kit	6088	200 次
dU plus dNTP Mixture (12.5x)	4035	800 μl

## 在复杂多重PCR反应中发挥威力的专用试剂盒

### Multiplex PCR Assay Kit Ver.2

本制品是高速Priming性DNA聚合酶与可发挥引物退火性的反应液配套的多重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，可实现在更短时间内进行特异性且扩增序列偏好性少的PCR反应。通过调整酶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

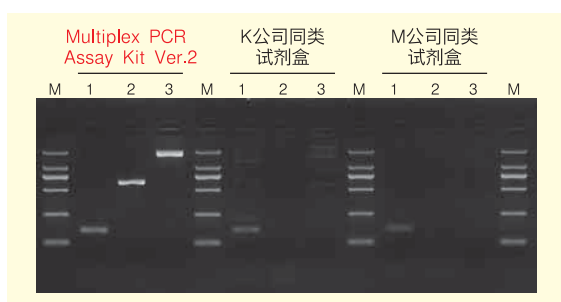
与其他公司同类产品相比,本制品可在更短时间内获得10种目的基因的特异性扩增片段。

	Multiplex PCR Assay Kit Ver.2	K公司同类试剂盒	M公司同类试剂盒
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 : *LRP5* 155 bp  
 2 : *JUN* 604 bp  
 3 : *TGFB1* 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

表观遗传学分析用PCR酶

TaKaRa EpiTaq™ HS (for bisulfite-treated DNA)

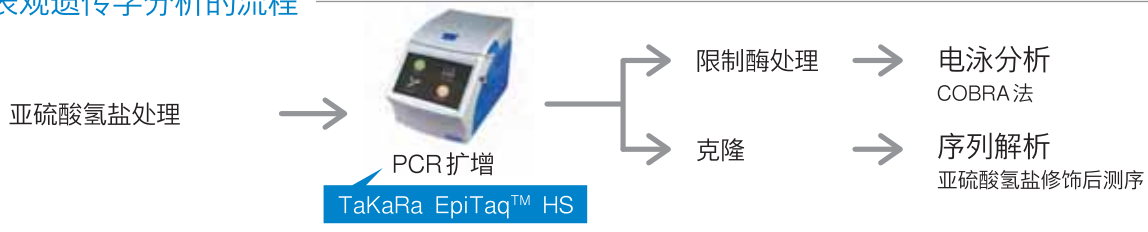
表观遗传学

亚硫酸氢盐处理

Hot Start

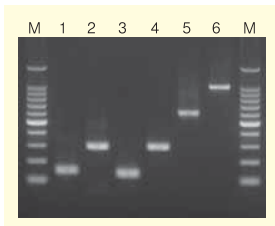
TaKaRa EpiTaq™ HS (for bisulfite-treated DNA) 是用于亚硫酸氢盐修饰后含有尿嘧啶的模板DNA进行PCR扩增时所需的理想DNA聚合酶。亚硫酸氢盐修饰后的DNA有时会影响PCR反应性能，本制品中的镁离子及dNTP浓度经调整后可调节扩增效率和反应特异性，能够很好地扩增难扩增的目的片段。

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

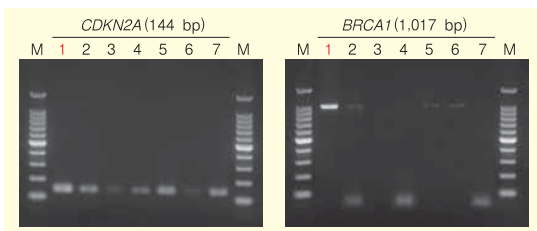
使用MethylEasy™ Xceed Rapid DNA Bisulphite Modification Kit对HeLa基因组DNA进行亚硫酸氢盐修饰，然后使用TaKaRa EpiTaq™ HS对各基因的上游CpG岛区域进行PCR扩增反应。结果证明，目的基因的各区域包括超过1 kb的区域都得到很好的扩增结果。



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. } 40 Cycles  
72°C 30 sec.\* }  
\* 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

无需提取DNA、直接进行PCR!

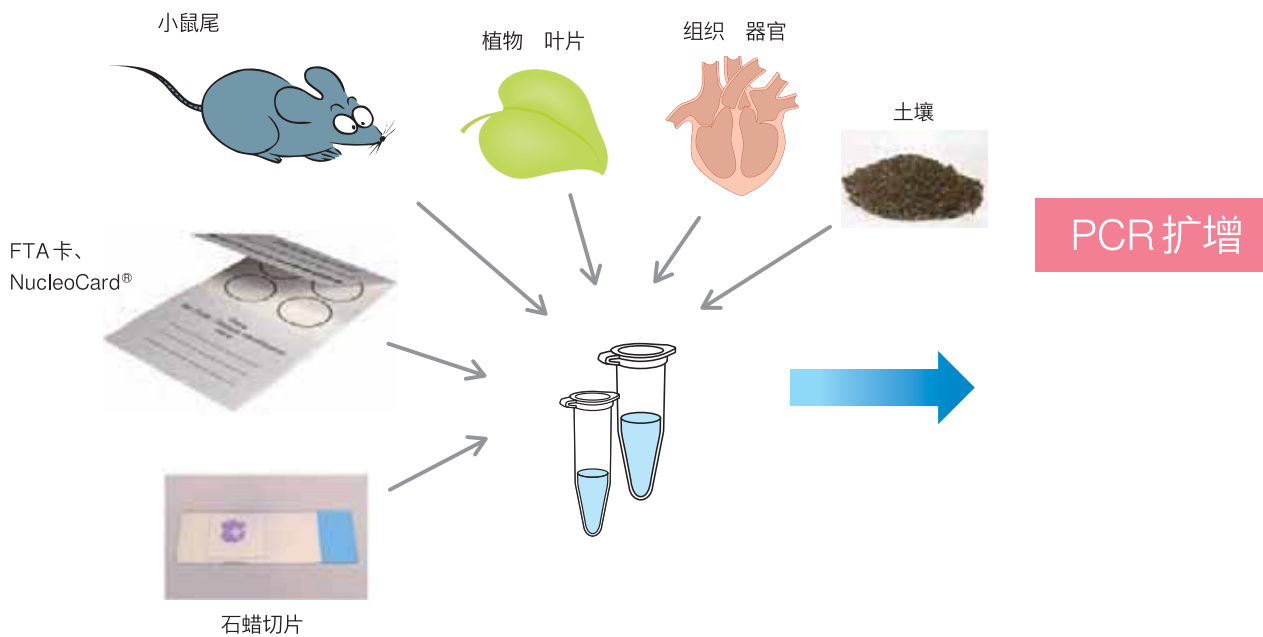
## MightyAmp™ 系列

MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.2

MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.3

MightyAmp™ Genotyping Kit

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

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阻害物的生体粗提样品。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阻害物的抵抗性。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阻害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,并可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。

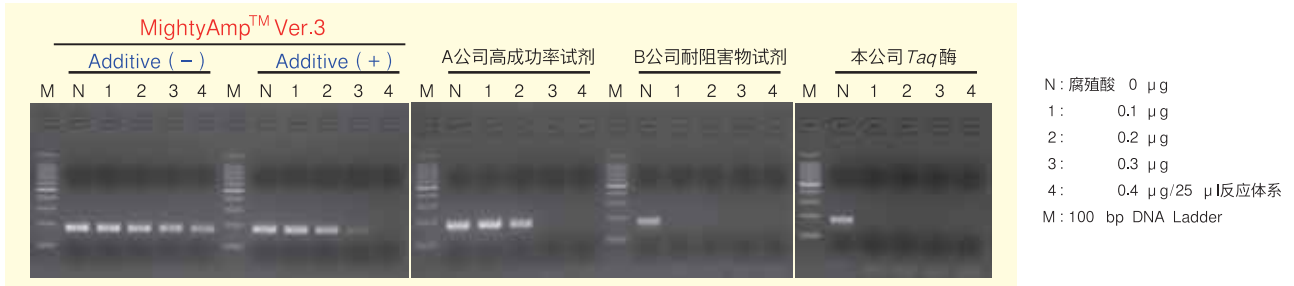
【扩增片段的标准】

Direct PCR: ~2 kb

## ■ 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反应有很强的阻害作用。

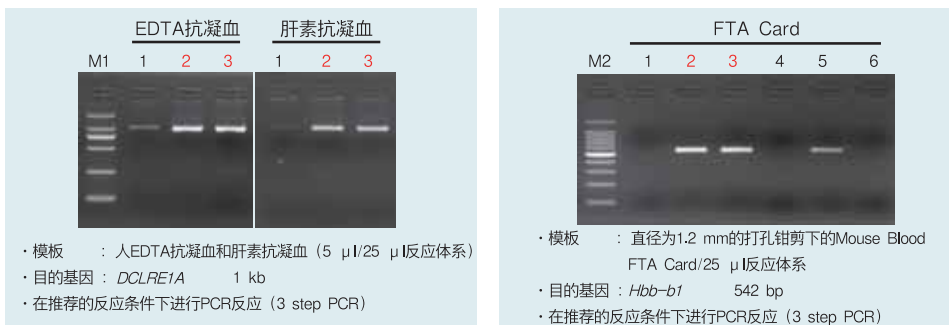
本制品的耐腐殖酸性明显高于已有的PCR酶,可提高含有多量土壤成分粗提样品的PCR反应成功率。



- 模板 : 大肠杆菌基因组DNA (相当于 $2 \times 10^8$  copies)
  - 目的基因 : 16S rDNA 173 bp · 各种酶在推荐的反应条件下进行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、含有多量多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



- 模板 : 人EDTA抗凝血和肝素抗凝血 (5 μl/25 μl反应体系)
  - 目的基因 : *DCLRE1A* 1 kb
  - 在推荐的反应条件下进行PCR反应 (3 step PCR)
- 1: MightyAmp Ver.2 (以往制品)      M1: DL2,000 DNA Marker  
 2: MightyAmp Ver.3 Additive (-)      M2: 100 bp DNA Ladder  
 3: MightyAmp Ver.3 Additive (+)  
 4: 本公司Taq酶  
 5: A公司高成功率酶  
 6: B公司耐阻害物酶

(Takara Bio Inc.比较结果)

同以往制品 (Ver.2) 相比, Ver.3可提高血液、动植物组织等生物体样品Direct PCR的扩增性能。也可对无需DNA纯化操作的涂有血液、口腔粘膜、植物叶子等样品的FTA卡及NucleoCard®、滤纸进行Direct PCR。

用于小鼠尾、植物叶片、大米、鱼肉、土壤、粪便等广泛样品的基因型判定

# MightyAmp™ Genotyping Kit

基因型判定

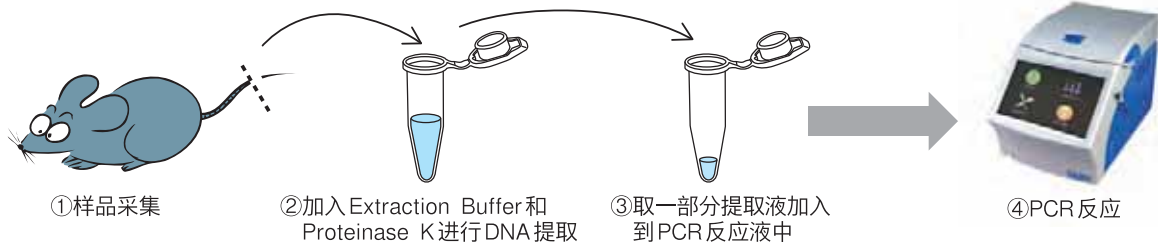
粗提样品

【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

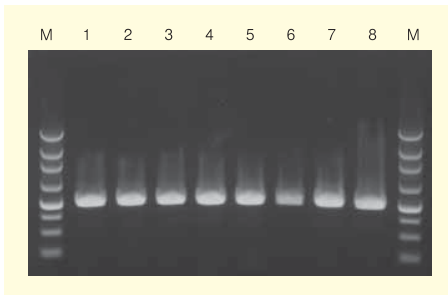


★得到的DNA提取液可进行多次实验

→ 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 μl上清为模板，加入到50 μl 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。



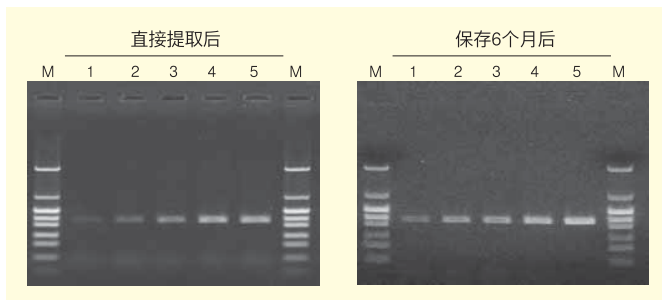
目的基因：  
Lane 1~8: *Ywhaz* 约1 kb  
M: 250 bp DNA Ladder

在4 μl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. } 40 Cycles  
60°C 15 sec. }  
68°C 1 min. }

## 提取液冷冻保存的影响

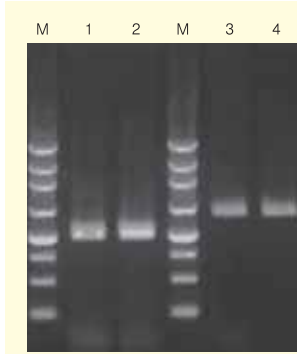
取小鼠尾前端1.5 mm，加入制品中附带的Extraction Buffer和Proteinase K提取DNA后，-20°C冷冻保存6个月。室温融化后的提取液加入20 μl的PCR反应体系中，进行小鼠*Ywhaz*基因的PCR扩增。以冷冻保存液为模板的目的基因也有很好的扩增效果。



目的基因: *Ywhaz* 约1 kb  
模板(提取液)量 / 20 μl反应体系:  
Lane 1: 0.1 μl  
2: 0.2 μl  
3: 0.4 μl  
4: 0.8 μl  
5: 2.0 μl  
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粒精米，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: 精米粒 (1粒)

*rbcl* (约1.3 kb)

M: 250 bp DNA Ladder

PCR条件：

98°C 2 min.

↓

98°C 10 sec.

60°C 15 sec.

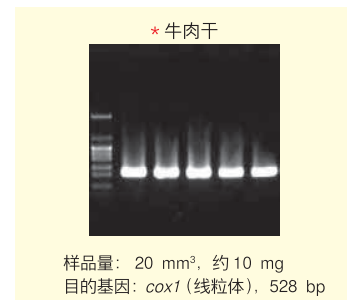
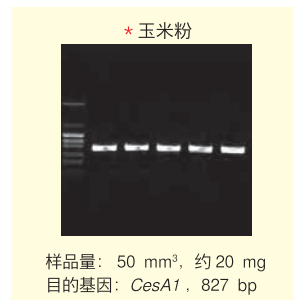
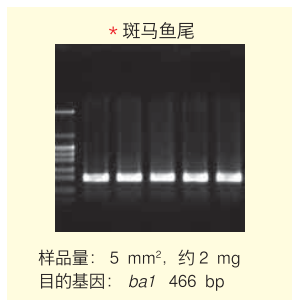
68°C 1 min.

40 Cycles

■ 各生体组织、加工食品的PCR扩增

取各种样品1~50 mg，加入制品中自带的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	猪干肉、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*	羊碎肉
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	250 U
MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.2	R071Q	50 U
	R071A	250 U
	R071B (A×4)	1,000 U
MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.3	R076A	250 U
	R076B (A×4)	1,000 U
Lysis Buffer for PCR	9170A	20 ml
MightyPrep reagent for DNA	9182	20 ml
	9182S	2 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*<sup>™</sup> (*TaKaRa Taq*<sup>™</sup> Version 2.0 plus dye)

*Premix Taq*<sup>™</sup> (*Ex Taq*<sup>™</sup> Version 2.0 plus dye)

*Premix Taq*<sup>™</sup> (*LA Taq*<sup>™</sup> Version 2.0 plus dye)

*EmeraldAmp*<sup>®</sup> MAX PCR Master Mix

*EmeraldAmp*<sup>®</sup> PCR Master Mix

*SapphireAmp*<sup>®</sup> Fast PCR Master Mix

*EmeraldAmp*<sup>®</sup> MAX HS PCR Master Mix



## Premix Taq™系列 plus dye 产品

本系列产品是PCR反应的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。

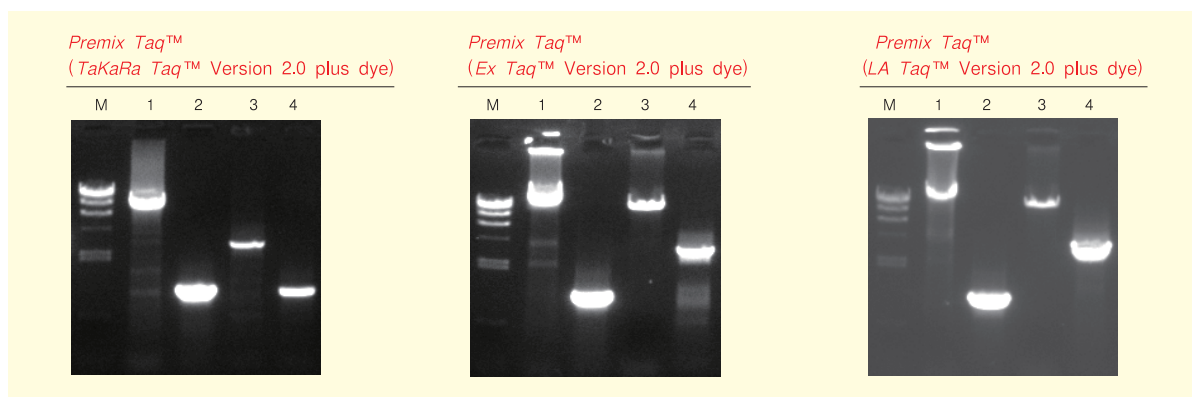
### Premix Taq™ (LA Taq™ Version 2.0 plus dye)

- 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)	RR903Q/A	50 μl 反应 × 20 次/60 次

实现了高性价比! Dye Plus PCR用Premix 试剂

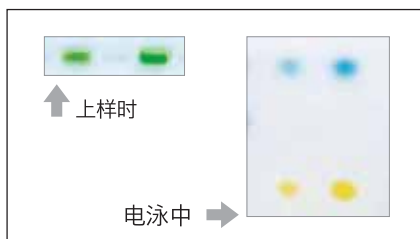
# EmeraldAmp<sup>®</sup> MAX PCR Master Mix

Loading Dye Plus

通用性

EmeraldAmp<sup>®</sup> 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。

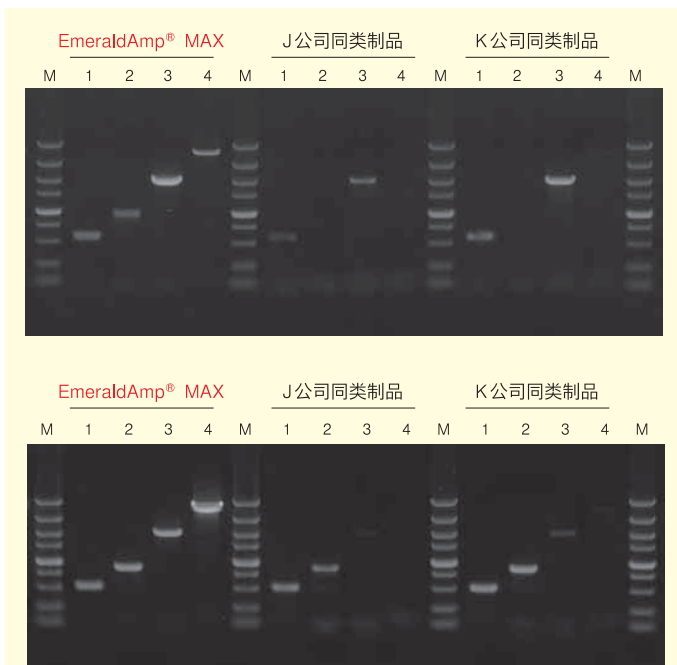
【扩增片段的标准】  
菌落PCR检测插入片段: ~10 kb  
Human genome DNA: ~15 kb



- 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<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> 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: <i>BCL2</i>	581 bp	GC 68%
	2: <i>TGFB1</i>	987 bp	GC 72%
	3: <i>JUN</i>	2,025 bp	GC 65%
	4: <i>TGFB1</i>	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: <i>CYC</i>	2,085 bp	GC 37%
	4: <i>DCLRE1A</i>	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. } 30 Cycles  
72°C 1 min./kb }

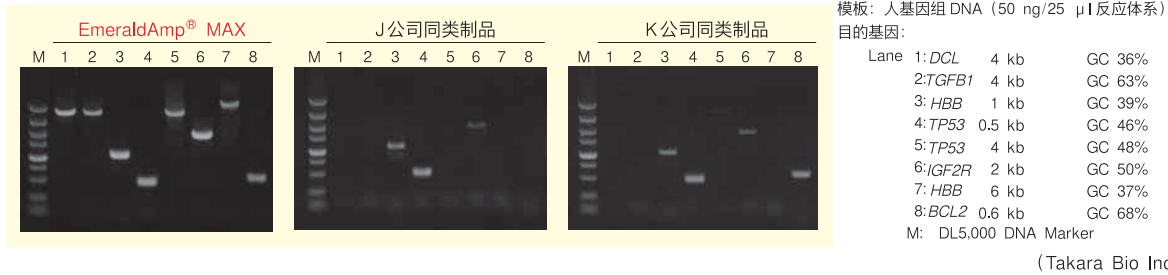
(Takara Bio Inc.比较结果)

## 在同一条件下进行0.5~6 kb片段的扩增

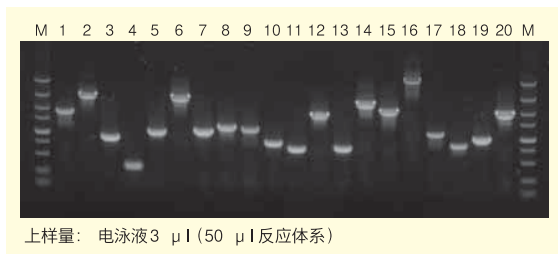
以人基因组DNA为模板，使用EmeraldAmp<sup>®</sup> MAX及其他公司同类制品，在右边的同一PCR反应条件下对不同片段大小的目的基因进行了PCR扩增。

结果显示：EmeraldAmp<sup>®</sup> 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.	} 30 Cycles
60°C	30 sec.	
72°C	6 min.	



## 菌落PCR确认插入片段大小

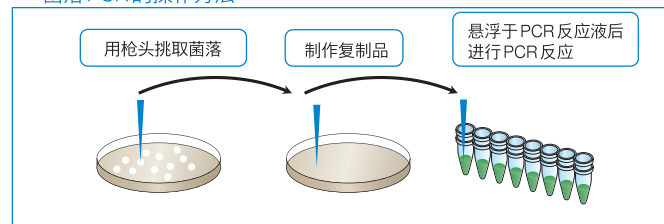


M: DL5,000 DNA Marker  
1% Agarose L03

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

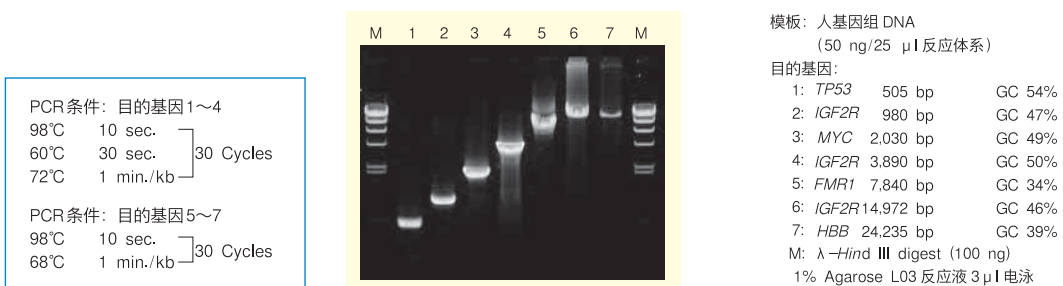
将小鼠肝脏来源的cDNA文库 (pUC19载体) 进行克隆转化后，随机挑取大肠杆菌菌落，使用载体上的引物进行PCR扩增，确认了插入片段大小。

### 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<sup>®</sup> 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。



### 【制品一览表】

制品名称	Code No.	包装量
EmeraldAmp <sup>®</sup> MAX PCR Master Mix	RR320Q	50 μl 反应 × 40 次
	RR320A	50 μl 反应 × 160 次

# EmeraldAmp<sup>®</sup> PCR Master Mix SapphireAmp<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> 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<sup>®</sup>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

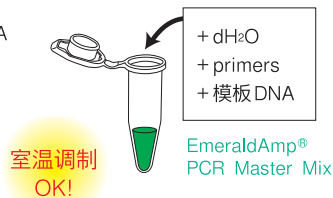
【使用SapphireAmp<sup>®</sup>时的扩增片段标准】

菌落PCR确认插入片段大小: ~6 kb

Human genome DNA: ~6 kb

## EmeraldAmp<sup>®</sup> PCR Master Mix的操作流程

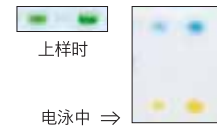
①分取EmeraldAmp<sup>®</sup>  
加入引物和模板DNA



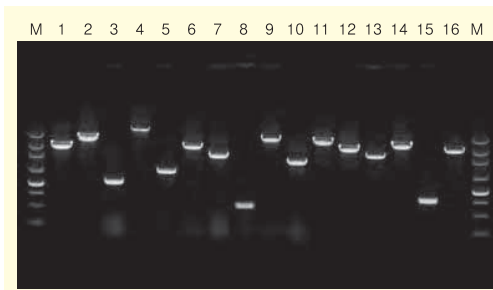
②Hot Start PCR



③直接电泳



## ■ 使用SapphireAmp<sup>®</sup> Fast PCR Master Mix 进行菌落PCR



1% Agarose L03 5 μl 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<sup>®</sup> 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. } 30 Cycles  
72°C 40 sec.

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 <sup>®</sup> PCR Master Mix	RR300Q	50 μl 反应 × 40 次
	RR300A	50 μl 反应 × 160 次
	RR300B (A×5)	50 μl 反应 × 800 次
SapphireAmp <sup>®</sup> Fast PCR Master Mix	RR350Q	50 μl 反应 × 40 次
	RR350A	50 μl 反应 × 160 次
	RR350B (A×5)	50 μl 反应 × 800 次
EmeraldAmp <sup>®</sup> MAX HS PCR Master Mix	RR330A	50 μl 反应 × 160 次

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

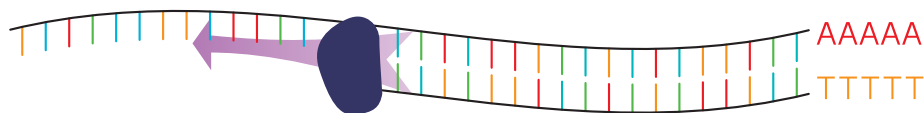
PrimeScript™ RT-PCR Kit

PrimeScript™ II High Fidelity RT-PCR Kit 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

1 Step RT-PCR

## PrimeScript™ One Step RT-PCR Kit Ver.2

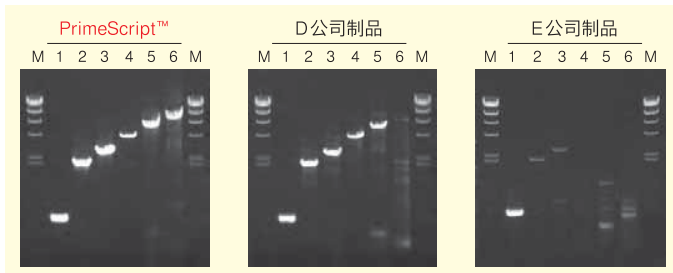
PrimeScript RTase和TaKaRa Ex Taq® HS优化组合而成的1 Step RT-PCR试剂盒。预混型的组分，使操作更为简便。

1 Step RT-PCR

## 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:  $\lambda$ -Hind III digest

以1  $\mu$ 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，其结果优于其它各公司制品。

模板: human total RNA

目的基因:

Lane 1: *TFRC* 0.5 kb    4: *TFRC* 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)

2 Step RT-PCR

## 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

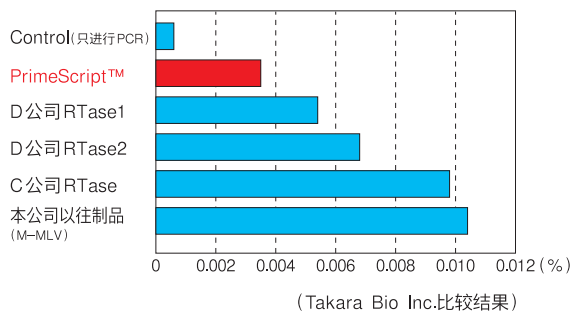
## ★ Topic

### 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我公司的高保真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，我公司的PrimeScript表现出高的正确性。

#### 【方法】

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



TFR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……



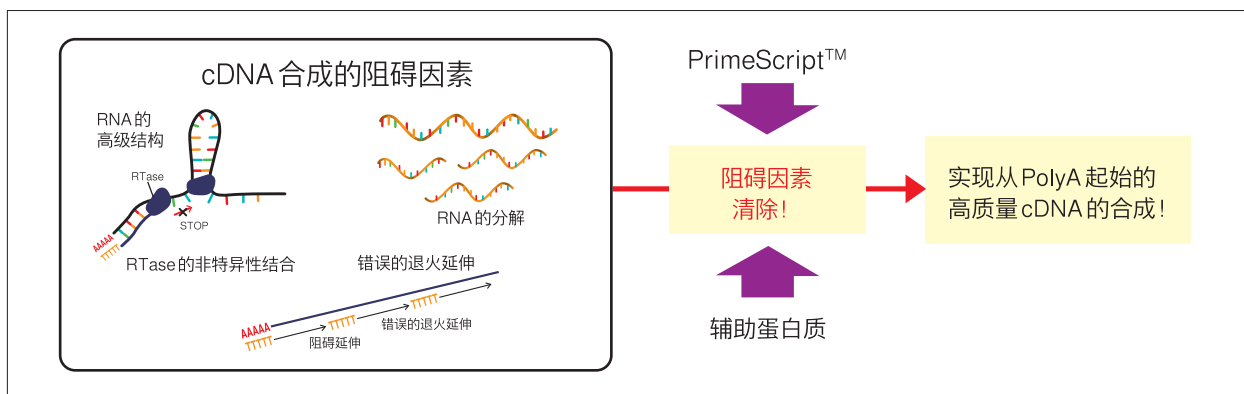
## PrimeScript™ II High Fidelity RT-PCR Kit

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

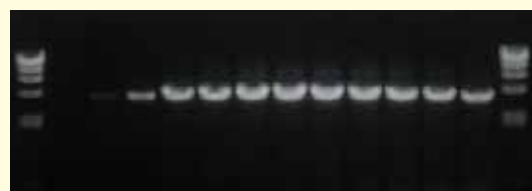
PrimeScript II RTase是在Takara公司特别的PrimeScript RTase中添加辅助蛋白质后进行了改良，可很好地抑制cDNA合成的阻碍因素。使用PrimeScript II RTase和Oligo dT引物从PolyA尾开始的延伸反应，在42°C条件下可防止RNA降解，也可获得低背景、高质量的全长cDNA。当然，PrimeScript II RTase还保持了PrimeScript RTase所拥有的合成cDNA的效率及速度。另外，由于此酶可完全抑制反应液配制时所产生的非特异性延伸反应，因此，反应液配置后，冰上放置直至反转录反应开始，不会发生抑制cDNA合成的现象。



### ■ 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



## 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

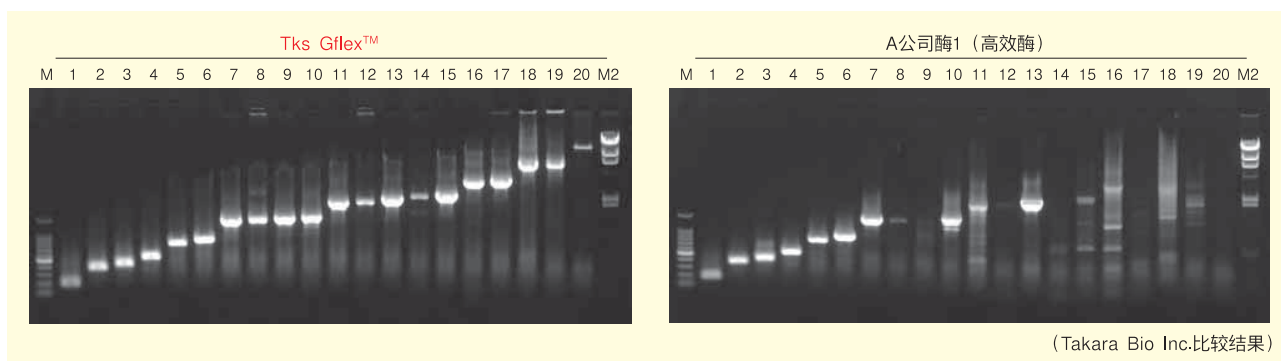
实验例 4: 多个 DNA 片段同时进行克隆  
(PrimeSTAR® Max & In-Fusion®)

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	KCNQ1	2,031	64.2
2	NKX2-5	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	CEP85L	2,418	42.0
5	CMA1	744	52.2	15	PKP2	2,514	53.3
6	CITED2	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	ADRB1	1,434	71.8	20	RYR2	14,904	46.2

Tks Gflex的PCR条件:  
 94°C 1 min.  
 ↓  
 98°C 10 sec.  
 55 or 60°C 15 sec.  
 68°C 30 sec./kb  
 } 35 Cycles

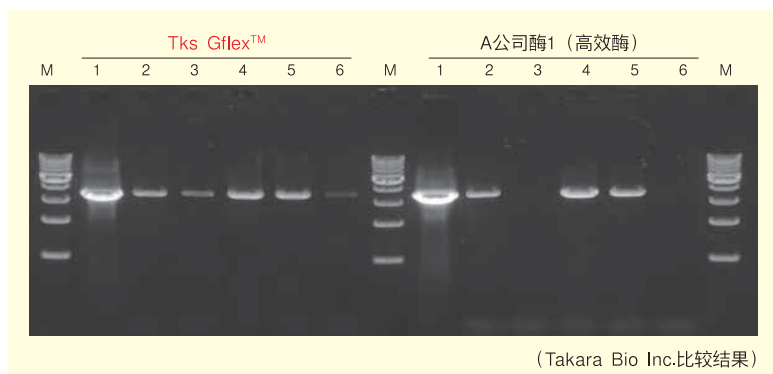
M: 100 bp DNA Ladder  
 M2: λ-Hind III digest

★使用兼具优良伸延性和高特异性的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: 利用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, pH8.0、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: *Psy1* (约 3.5 kb)

样品:  
 Lane 1: 从叶子中提取DNA  
 2: 叶子 (Φ2 mm) 裂解液  
 3: 果皮 (Φ2 mm) 裂解液  
 4: 树枝 (1.2 mm) 裂解液  
 5: 果实 (Φ2 mm) 裂解液  
 6: 外皮 (Φ2 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)<sub>8</sub> 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)<sub>8</sub>

	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 <sup>®</sup> HS	250	5	25	2	32	12.80%
PrimeSTAR <sup>®</sup> Max	201	0	5	0	5	2.49%
PrimeSTAR <sup>®</sup> 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%

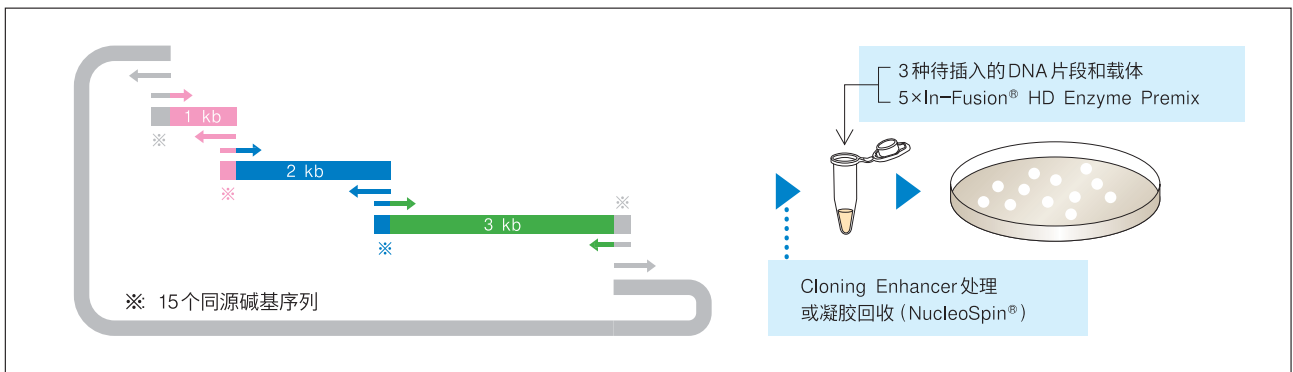
(Takara Bio Inc.比较结果)

※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<sup>®</sup> Max还是PrimeSTAR<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> Max & In-Fusion<sup>®</sup>)

【方法】 使用PrimeSTAR<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> 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/白斑筛选。



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)。

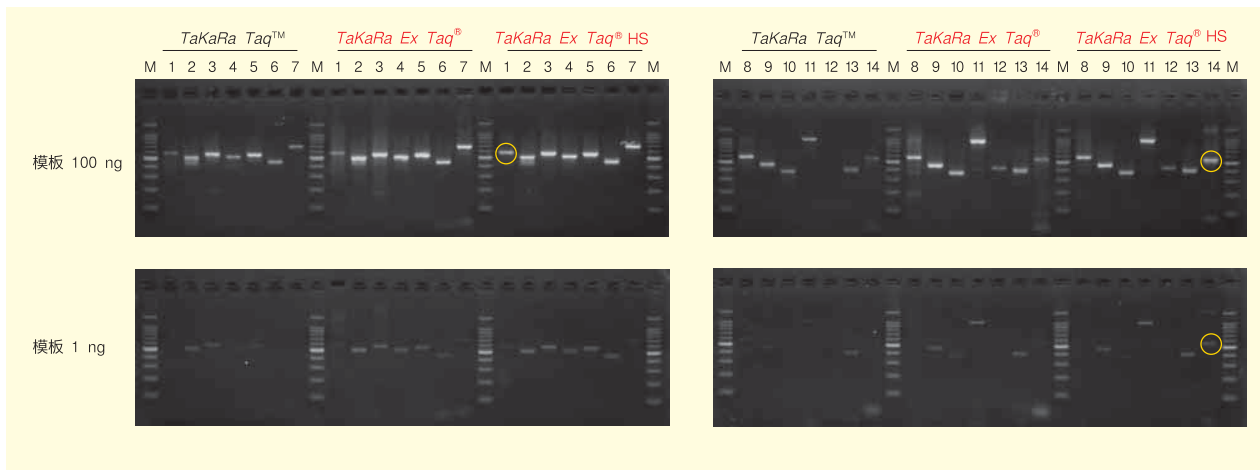
★PrimeSTAR<sup>®</sup> Max DNA Polymerase拥有5 秒/kb的延伸能力, PCR扩增5 kb的片段约60分钟 (※) 即可完成。  
PCR扩增→扩增产物确认→In-Fusion反应→克隆转化3小时就可以完成! 克隆的目的DNA片段是可以通过PCR扩增而获得, 另外, 载体线性化也推荐使用PCR扩增的方法。

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

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<sup>®</sup>和TaKaRa Taq<sup>™</sup> 在同一条件下各种引物扩增结果比较

【方法】 以人基因组DNA为模板, 扩增14种1 kb左右目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<sup>®</sup>、TaKaRa Ex Taq<sup>®</sup> HS和TaKaRa Taq<sup>™</sup> 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 μl反应体系)  
装置: TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice Gradient

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

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

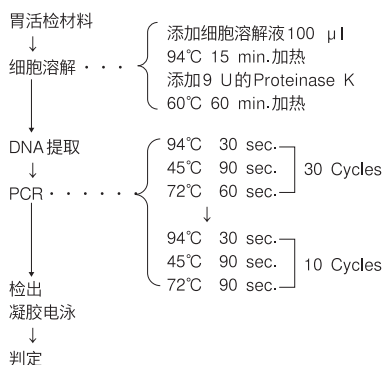
★与TaKaRa Taq<sup>™</sup>相比,TaKaRa Ex Taq<sup>®</sup>和TaKaRa Ex Taq<sup>®</sup> HS的扩增成功率和扩增产物的收量都很高。另外, 画○的地方是标出Hot Start PCR的扩增效果。  
TaKaRa Ex Taq<sup>®</sup>和TaKaRa Ex Taq<sup>®</sup> HS是通用性高、容易使用的PCR酶。

■ 实验例6: 使用TaKaRa Ex Taq<sup>®</sup> 对胃活检组织的Helicobacter pylori进行检测

1983年, Marshall和Warren发现了Helicobacter pylori是胃炎的病原菌。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。

以下是神户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<sup>®</sup>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<sup>®</sup>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T<sub>m</sub>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。T<sub>m</sub>（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T<sub>m</sub>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T<sub>m</sub>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T<sub>m</sub>值适当的引物。

\*1  $T_m \text{ (}^\circ\text{C)} = 2(nA+nT) + 4(nG+nC) - 5$

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T<sub>m</sub>值。

\*2 引物设计用软件

Primer 3 (<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、模板使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仪种类及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 适用于扩增高GC含量目的序列的酶有哪些？

#### 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 适用于扩增长片段的酶有哪些？

**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 适用于短时间内完成PCR反应的酶有哪些？

**A7** 推荐使用PrimeSTAR Max、PrimeSTAR GXL、SapphireAmp Fast。含有Takara自主研发的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** 适用于扩增高AT含量目的序列的酶有哪些？

**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，但不适于亚硫酸氢盐处理后的DNA等含尿嘧啶模板的扩增。

**Q9** 亚硫酸氢盐处理后的DNA扩增时，可使用的酶有哪些？

**A9** 请使用*TaKaRa EpiTaq HS (for bisulfite-treated DNA)*。本酶通过调整Mg<sup>2+</sup>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** 适用于含有PCR阻害物质进行PCR反应的酶有哪些？

**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最适合。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** 适用于石蜡包埋组织切片进行PCR反应的酶有哪些？

**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** 适用于多个样品进行电泳分析的PCR酶有哪些？

**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** 适用于菌落PCR的酶有哪些？

**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** *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）或MightyAmp DNA Polymerase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酶要获得混合产物时，请选择简并引物。

**Q15** 适用于多重PCR反应的酶有哪些？

**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°C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有害物的模板。含PCR有害物的模板进行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°C、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°C，退火温度设定为60°C；引物Tm值低于55°C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酶更换为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°C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的超小型设计
- ◆ 可用USB闪存保存或者读取反应程序

畅销十多年的PCR仪

### TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice™ *Gradient*

( Code No. TP600 )



- ◆ 操作面板具有4个调节角度，可自由调节，便于使用
- ◆ 可设置最大温差为20℃的梯度温度
- ◆ 采用Pop Up Menu输入方式，直观的图画方式操作界面，方便的程序编辑方式

# < 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
高功率! 用于各种情况下的 Tks Gflex™	Tks Gflex™ DNA Polymerase	R060Q/A	50 U/250 U
		R060B (A×4)	1,000 U
	Tks Gflex™ DNA Polymerase Low DNA	R091S/A	20/100 次 (20 µl 反应)
高保真PCR酶 PrimeSTAR® 系列	PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase	R050Q/A	40/200 次 (50 µl 反应)
		R050B (A×4)	800 次 (50 µl 反应)
	PrimeSTAR® Max DNA Polymerase	R045Q/A	25/100 次 (50 µl 反应)
		R045B (A×4)	400 次 (50 µl 反应)
	PrimeSTAR® HS DNA Polymerase	R010Q/A/B (A×4)	50/250 U/1,000 U
PrimeSTAR® HS (Premix)	R040Q/A	40/100 次 (50 µl 反应)	
(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	50 U/250 U/1,000 U
		RR001C (B×3)	3,000 U
	TaKaRa Ex Taq® (Mg <sup>2+</sup> free Buffer)	RR01AM/BM (AM×4)	250 U/1,000 U
		RR01CM (AM×12)	3,000 U
	Premix Ex Taq™ Hot Start	RR030Q/A	40/100 次 (50 µl 反应)
	Premix Taq™ (Ex Taq™ Version 2.0)	RR003Q/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®	RR002A/B (A×4)	125 U/500 U
		RR02MQ/MA/MB (A×4)	50 U/125 U/500 U
	TaKaRa LA Taq® with GC Buffer	RR52A/AM	125 U/125 U
		RR02AG/BG (AG×4)	125 U/500 U
	RR52AG	125 U	
	Premix Taq™ (LA Taq™ Version 2.0)	RR900Q/A	20/60 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
		R007Z	10,000 U
	TaKaRa Taq™	R001A/B	250 U/1,000 U
		R001C (B×3)	3,000 U
	TaKaRa Taq™ (Mg <sup>2+</sup> free Buffer)	R001AM/BM (AM×4)	250 U/1,000 U
		R001CM (AM×12)	3,000 U
	TaKaRa Taq™	R500A/AM/Z	250 U/250 U/10,000 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)	
多重PCR用	Multiplex PCR Assay Kit Ver.2	RR062A/B (A×4)	100 次/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
强大的PCR 用于粗提样品	MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.2	R071Q/A/B (A×4)	50 U/250 U/1,000 U
	MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.3	R076A/B (A×4)	250 U/1,000 U
	MightyAmp™ Genotyping Kit	R074A	250 U
	Lysis Buffer for PCR	9170A	20 ml
	MightyPrep reagent for DNA	9182S/9182	2 ml/20 ml
直接电泳! Dye Plus Premix 试剂	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)	RR903Q/A	20/60 次 (50 µl 反应)
	Premix Taq™ (TaKaRa Taq™ Version 2.0 plus dye)	RR901Q/A	40/120 次 (50 µl 反应)
	EmeraldAmp® MAX PCR Master Mix	RR320Q/A	40/160 次 (50 µl 反应)
		RR330A	160 次 (50 µl 反应)
	EmeraldAmp® PCR Master Mix	RR300Q/A	40/160 次 (50 µl 反应)
		RR300B (A×5)	800 次 (50 µl 反应)
	SapphireAmp® Fast PCR Master Mix	RR350Q/A	40/160 次 (50 µl 反应)
RR350B (A×5)		800 次 (50 µl 反应)	
GMP-Grade 产品	TaKaRa Taq™ Hot Start Version GMP grade	R310A	250 U

## 【产品型号】

制品名称	Dice Touch	Dice Gradient
Code No.	TP350	TP600
外形尺寸(mm)	180(W) × 285(D) × 205(H) (上盖关闭时)	260(W) × 345(D) × 260(H) (面板关闭时)
重量	5.0 kg	11.5 kg
电源电压	AC 100~240V、50/60Hz 5 A (100 V时)	AC 100~240V、50/60Hz 4.9 A (100 V时)
加热冷却方式	Peltier 元件	Peltier 元件
最大加热速度	3.0°C / 秒以上	3.0°C / 秒以上
最大冷却速度	2.5°C / 秒以上	2.0°C / 秒以上
加热块材质	0.2 ml × 96 铝合金材质	0.2 ml × 96 铝合金材质
温度精度	±0.5°C (30~99°C)	±0.5°C (30~99°C)
温度均一性	±0.3°C (30~99°C)	±0.5°C (30~99°C)
温控范围	4.0~99°C	4.0~99.9°C
储存程序数量	内存10,000 以上 可使用USB存储器	最大200
梯度功能	12梯度 (最大温差24°C)	12梯度 (最大温差20°C)
显示面板	7英寸彩色触摸屏 (压感式)	蓝/白LCD液晶屏 (240 × 64 dots)

## 【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 Hi-Tube Flat Cap Recovery <sup>※</sup>	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 &amp; 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 &amp; 8联cap

制品名称	Code No.	包装量
TaKaRa 96 well PCR Hi-Plate	NJ111	50 plates
TaKaRa PCR Hi-Caps	NJ811	120 strips
96 well snap plate	NJ710	10 plates
Flat cap for snap plate	NJ720	120 strips

注2) NJ111与NJ811配套使用、NJ710与NJ720配套使用。

- 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：<http://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。

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：辽宁省大连市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**