

助力您找到适合的PCR酶!

Takara三大PCR酶应用数据集锦

我们信心十足的为您推荐3款PCR酶TaKaRa Ex Premier™、PrimeSTAR® Max和MightyAmp™ Ver.3并展示相关应用数据，同时在封底分享了一些用户的使用感想，希望您为在选择酶的时候作为参考!

- 我想增加收量!
- 我不知道该使用哪种PCR酶!
- 我想简化样品制备!

TaKaRa Ex Premier™ DNA Polymerase

p.2~7

- ✓ 对于粗提样品、GC/AT rich、长链 (~30 kb) 等难扩增模板均可顺利扩增，具备高成功率
- ✓ α型酶具有良好的校正功能，能保持高保真性
- ✓ 预混型试剂，并且在-20℃保存不冻结，可节省操作时间

- 我想尽量减少错配!
- 我想进行正确的克隆!
- 我想快速完成PCR!

PrimeSTAR® Max DNA Polymerase

p.8~9

- ✓ Takara保真性最高的PCR酶
- ✓ 退火和延伸时间短，可实现超高速PCR
- ✓ 预混型试剂，制备反应液更简单

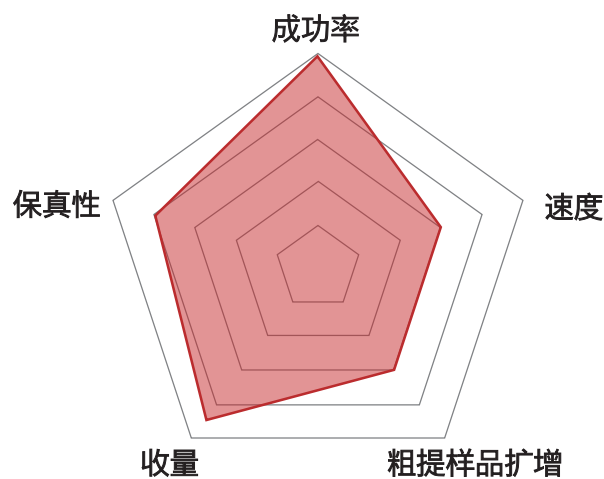
- 我想直接用样品进行PCR扩增!
- 我想做粗提样品PCR，特别是基因分型!

MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.3

p.10~11

- ✓ 无需提取操作，提高了对检测样品直接PCR的反应性能
- ✓ 对多种PCR反应阻害物的抵抗性更强
- ✓ 附带抑制非特异性扩增和弥散的添加剂

TaKaRa Ex Premier™ DNA Polymerase



■ 制品特点

- 与传统的基础型PCR酶相比，兼具**高成功率、高保真性和可操作性强的特点**
- **对于粗提样品、富含GC/AT的序列以及长链等难扩增的模板也能高成功率扩增**
- 具备 α 酶优良的校正功能和高保真性，克隆实验也可放心使用
- 预混型试剂，且-20℃保存不会冻结，反应液配制更简单！
- 另有预添加染料的版本，PCR后可直接电泳，使用更方便！

■ 推荐的应用场景

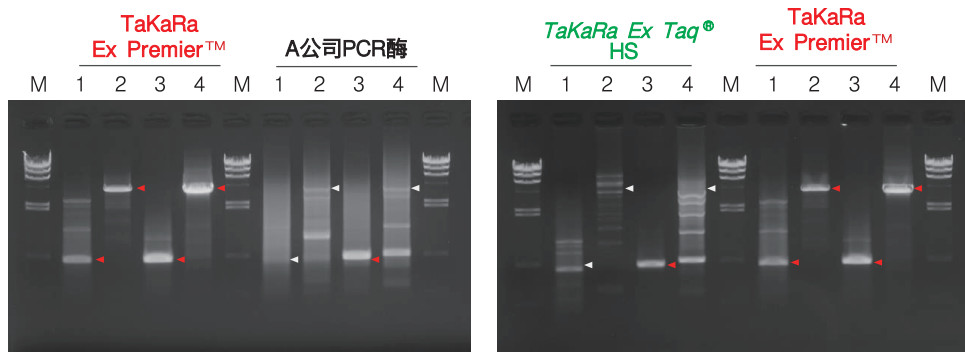
- ✓ 想要增加收量
- ✓ 不知道应该使用哪种PCR酶
- ✓ 想简化样品制备

■ 产品列表

产品名称	包装量	Code No.
TaKaRa Ex Premier™ DNA Polymerase	40 Rxns	RR370S
	200 Rxns	RR370A
	800 Rxns	RR370B(A × 4)
TaKaRa Ex Premier™ DNA Polymerase Dye plus	40 Rxns	RR371S
	200 Rxns	RR371A
	800 Rxns	RR371B(A × 4)

■ 本公司实验数据 (Takara Bio Inc.比较数据)

① GC/AT rich模板的扩增成功率的比较



模板：人基因组DNA, 100 ng

PCR反应条件：各制品推荐的反应条件

Lane 1: 0.5 kb (GC 75%) 2: 4 kb (GC 63%)
3: 0.5 kb (AT 65%) 4: 4 kb (AT 60%)
M: λ - Hind III digest

TaKaRa Ex Premier的PCR条件

0.5 kb目的片段 (Lane1&3)

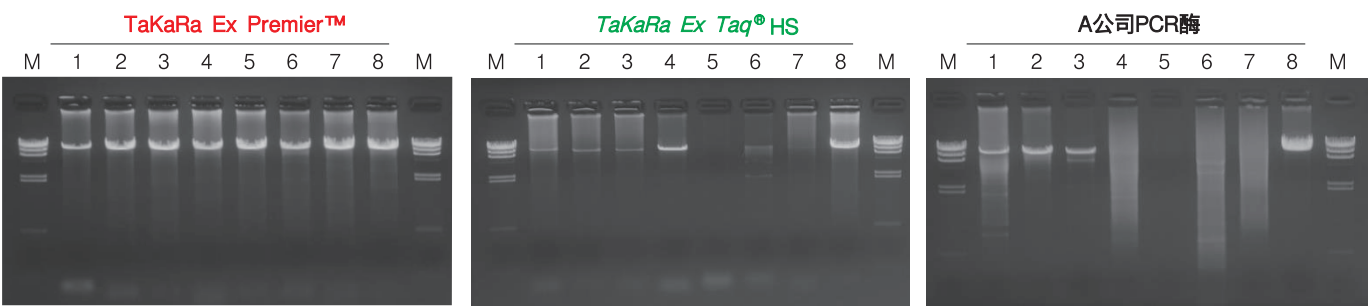
94℃ 1 min
98℃ 10 sec
55℃ 15 sec
68℃ 30 sec

4 kb目的片段 (Lane2&4)

94℃ 1 min
98℃ 10 sec
68℃ 2 min

尽管GC/AT rich的序列容易产生非特异性扩增，并且不能的顺利扩增，但TaKaRa Ex Premier™对这些GC/AT rich的模板显示出**强大的反应性能**（ $\blacktriangleleft$ ：特异性扩增）。而 TaKaRa Ex Taq® HS和A公司PCR酶出现了非特异性扩增（ $\blacktriangleleft$ ：非特异性扩增）

② 10 kb长链扩增成功率的比较

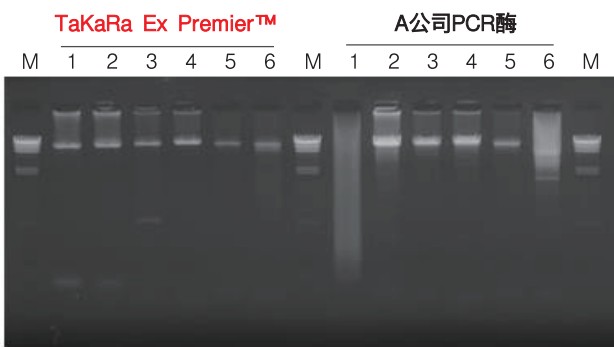


模板：人基因组DNA, 100 ng
PCR反应条件：各制品推荐的反应条件
Lane 1：HBB 2：TP53 3：BCL2 4：TFRC
5：EGFR 6：FGFR 7：IRS1 8：DMD
M：λ-Hind III digest

TaKaRa Ex Premier 的PCR条件
94℃ 1 min
98℃ 10 sec
68℃ 30 sec/kb 30 cycles

以人基因组DNA为模板，在各制品推荐的反应条件下扩增多种不同序列的基因（约10 kb）。结果显示，TaKaRa Ex Premier™对8种靶标扩增都获得了目的产物，不仅优于传统产品 TaKaRa Ex Taq® HS，而且与A公司的高保真、高成功率的PCR酶相比，成功率更高，特异性更好。

③ 10~32 kb长链目的基因的扩增



模板：人基因组DNA, 100 ng
PCR反应条件：各制品推荐的反应条件
Lane 1：10 kb 2：12 kb 3：20 kb
4：24 kb 5：27 kb 6：32 kb
M：λ-Hind III digest

TaKaRa Ex Premier 的PCR条件
94℃ 1 min
98℃ 10 sec
68℃ 10 min 30 cycles

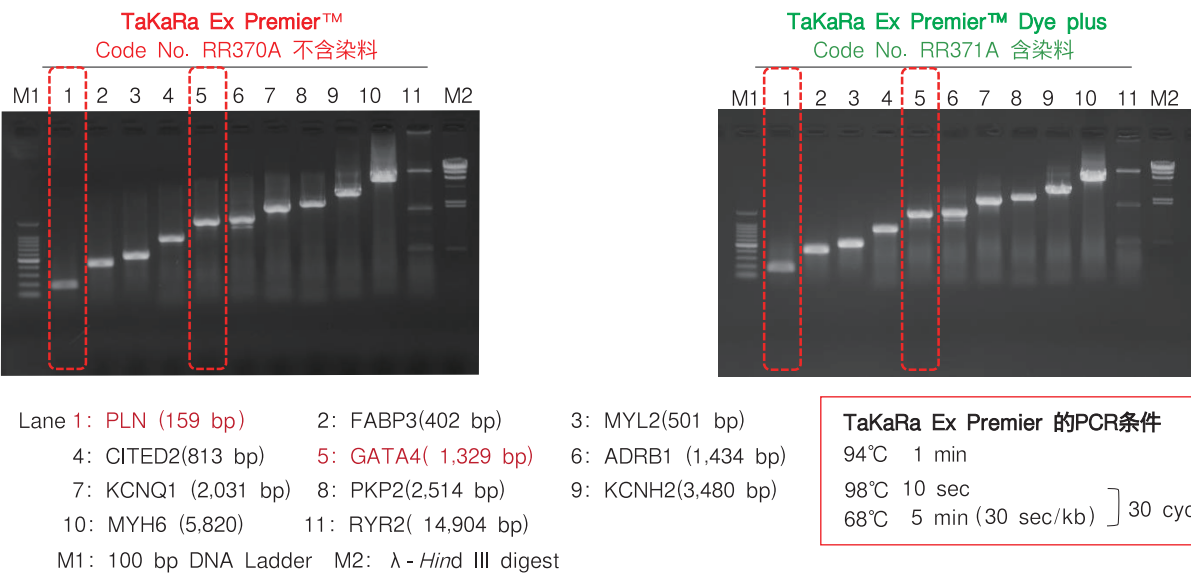
以人基因组DNA为模板，在各制品推荐的反应条件下扩增6种长片段（约10~32 kb）。结果显示，TaKaRa Ex Premier™对长达32 kb的长片段也能进行良好的扩增。而A公司的高保真性、高成功率的PCR酶，有不能成功扩增的长片段（例如：Lane1&6）。这表明，TaKaRa Ex Premier™在扩增长链靶标方面具有出色的反应性和成功率。

④ 搭配In-Fusion无缝克隆试剂使用，可轻松高效地完成克隆实验

使用TaKaRa Ex Premier™ DNA Polymerase (不含染料/含染料) 扩增的PCR产物 (平滑末端) 和线性化质粒载体，通过In-Fusion® Snap Assembly Master Mix (Code No. 638947等) 进行克隆，然后确认目的片段的克隆效率。

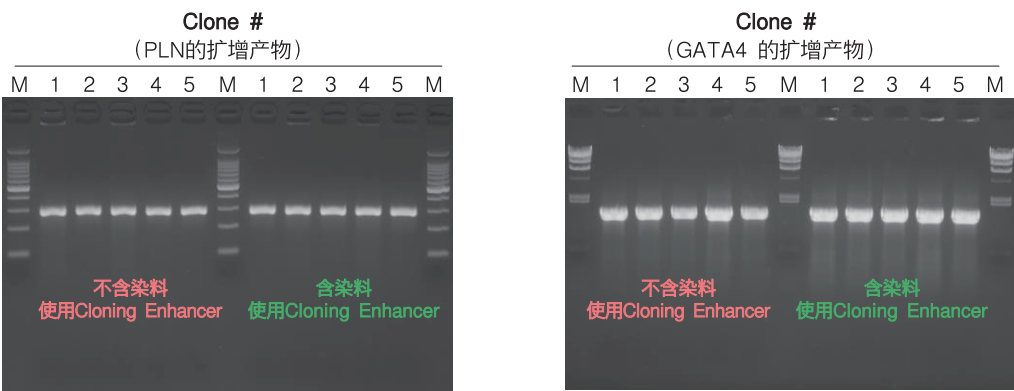
* 使用Cloning Enhancer (Code No. 639615等) 进行In-Fusion反应，无需纯化PCR产物。

<使用Ex Premier (不含染料/含染料) 扩增各种靶基因>



使用TaKaRa Ex Premier™ 扩增11个基因，并通过电泳验证，结果显示所有目的基因都得到有效扩增。实验过程中使用了Cloning Enhancer进行预处理，无需纯化PCR产物，可以简单轻松地进行In-Fusion克隆反应。

<Ex Premier (不含染料/含染料) 扩增产物的克隆结果>



使用上述实验例中PLN和GATA4 (Lane1&5) 的扩增产物进行In-Fusion克隆，各随机选取5个单菌落，进行插入片段的验证。结果显示，无论是**不含染料**还是**含染料**的Ex Premier扩增产物的克隆，都能确认到目的片段的插入。

相关产品

无需限制酶！短时间内可实现**高效克隆**的无缝克隆试剂

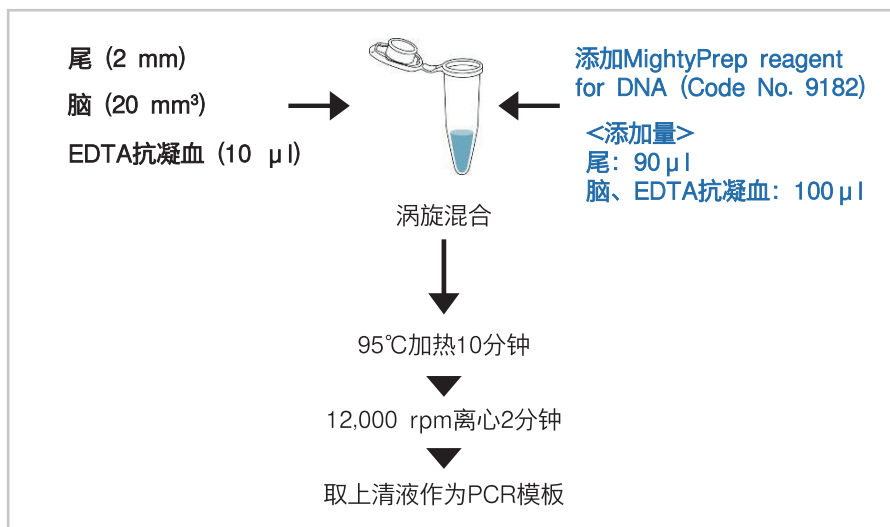
产品名称	包装量	Code No.
In-Fusion® Snap Assembly Master Mix	10 次	638947
	50 次	638948
	250 次	638949

⑤ 粗提样品的扩增 (小鼠不同组织粗提液)

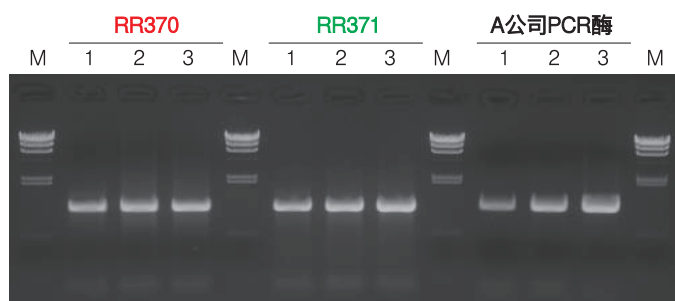
以来自小鼠不同组织(尾, 脑, EDTA抗凝血)的粗提液作为模板, 使用TaKaRa Ex Premier™ (Code No. RR370)、TaKaRa Ex Premier™ Dye plus (Code No. RR371) 和A公司PCR酶进行扩增。

※使用MightyPrep reagent for DNA (Code No. 9182) 制备粗提液。

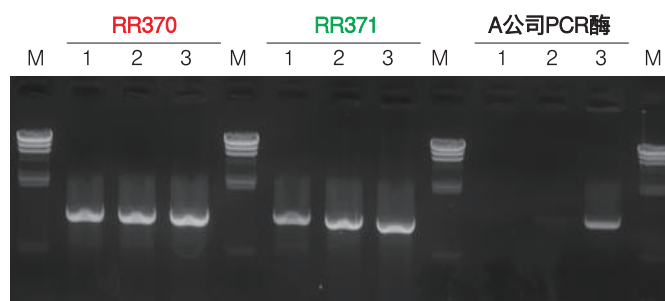
【参考】粗提液的制备方法



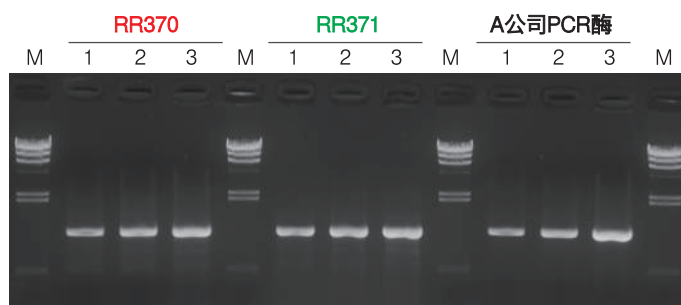
< 从小鼠尾粗提液中扩增 (图A) >



< 从小鼠脑粗提液中扩增 (图B) >



< 从小鼠EDTA抗凝血粗提液中扩增 (图C) >



模板: mouse *Raver2* (1,100 bp)

粗提液添加量

· 尾, 脑 (图A和B) ※使用25 µl反应体系

Lane1: 0.4 µl

Lane2: 1.0 µl

Lane3: 2.5 µl

· EDTA抗凝血 (图C) ※使用50 µl反应体系

Lane1: 1.0 µl

Lane2: 2.0 µl

Lane3: 5.0 µl

TaKaRa Ex Premier的PCR条件

94°C 1 min
98°C 10 sec
60°C 15 sec
68°C 1 min

35 cycles

A公司PCR酶的PCR条件

98°C 10 sec
60°C 5 sec
68°C 5 sec

35 cycles

使用TaKaRa Ex Premier™ 可以对小鼠多种组织粗提液中的目的基因进行特异性扩增。

用户案例分享

① 基因缺陷小鼠的基因分型

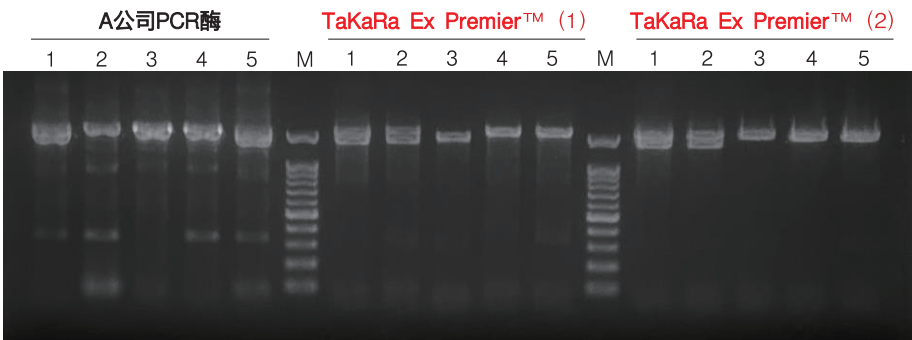
【数据提供】 神戸学院大学药学部卫生化学研究室中川公惠老师

实验内容

使用TaKaRa Ex Premier™ DNA Polymerase和A公司PCR酶对基因缺陷小鼠进行基因分型。

结果

模板: 鼠尾裂解液
目的基因: flox/flox或flox/+
扩增片段大小
Lane1、2: 1.6 kb和1.4 kb
Lane3~5: 只有1.6 kb



PCR条件		TaKaRa Ex Premier (1)		TaKaRa Ex Premier (2)	
A公司PCR酶					
94℃	1 min	94℃	1 min	94℃	1 min
98℃	10 sec	98℃	10 sec	98℃	10 sec
62.5℃	1 sec	62.5℃	15 sec	62.5℃	15 sec
68℃	1 sec	68℃	30 sec	68℃	1 min
35 cycles		30 cycles		30 cycles	

对产品的评价

其他公司的试剂有非特异性扩增，而TaKaRa Ex Premier™ DNA Polymerase没有，试剂不需要解冻，使用方便。今后要改用这款试剂。

② 比较TaKaRa Ex Premier™ DNA Polymerase与C公司PCR酶对土壤提取物的扩增效果

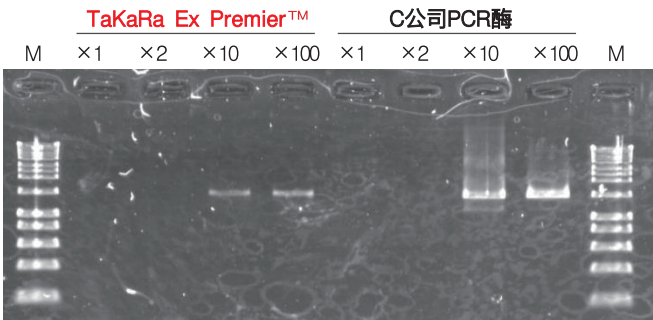
【数据提供】 国立极地研究所生物圈研究小组渡边宪一老师

实验内容

使用TaKaRa Ex Premier™和C公司的PCR酶对PCR抑制物含量较多的土壤提取物中的细菌进行检测。将提取物稀释4个梯度(×1、×2、×10、×100) 进行PCR。

结果

PCR条件		C公司的PCR酶	
TaKaRa Ex Premier			
94℃	1 min	95℃	5 min
98℃	10 sec	98℃	20 sec
55℃	15 sec	60℃	15 sec
68℃	1 min	72℃	45 sec
72℃	5 min	72℃	5 min
30 cycles		30 cycles	



在×1和×2的稀释梯度中，两种酶均未观察到扩增，而在×10和×100的稀释梯度中，两种酶均观察到目的基因的扩增。但是使用TaKaRa Ex Premier™获得了清晰的单条带，而使用C公司的PCR酶出现了smear和非特异性条带。由此说明，即使在一定量的抑制物质的存在下，TakaRa Ex Premier™也能进行特异性的PCR扩增。

对产品的评价

我认为TakaRa Ex Premier™比C公司的PCR酶使用更方便，因为它不会冻结。而且它是2x预混液的形式，配制反应液时操作也很方便，此外，即使使用含有许多抑制物质的土壤提取物为模板，也没有非特异性扩增，我认为这种酶具有很高的成功率和令人满意的准确性。

■ 用户案例分享

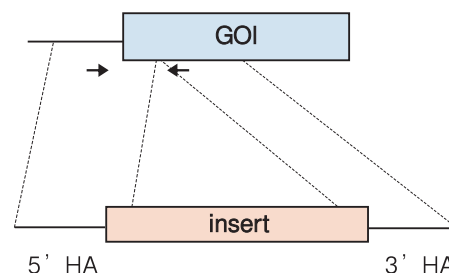
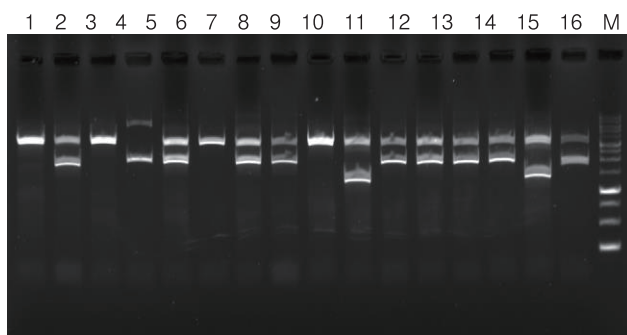
③ CRISPR-Cas9基因编辑后的基因分型

【数据提供】名古屋大学研究生院医学系研究科尾上耕一老师

实验内容

使用CRISPR-Cas9系统通过同源重组将目的片段插入目标基因的起始密码子正下方。挑取单个菌落，将其中一部分在96孔板中培养两天，然后提取基因组DNA作为模板进行基因分型。

结果



使用TaKaRa Ex Premier™ DNA Polymerase Dye plus，成功扩增了发生同源重组的约4,000 bp的片段，同时也得到了未插入目的片段的约2,000 bp的条带。此外，虽然我们没有进行平行实验，但使用另一公司带有染料的高保真性、高扩增性能的预混液在相同的循环数和退火温度下并没有得到理想的结果。

对产品的评价

使用另一公司的 2x 预混液未获得令人满意的扩增结果，但使用TaKaRa Ex Premier™成功了。在基因分型和菌落PCR等样本量很大的实验操作中，电泳前省略配制反应预混液和添加染料的步骤是非常必要的，我认为在节省人力和时间方面有很大的优势。

虽然在实验内容和结果中没有描述，但是我们仍然对一部分PCR产物（阳性插入的条带）进行了测序分析，在读取范围内，结果很好，没有任何的错误产生。我对结果很满意，因为我在实验的时候非常担心扩增产物的错误率。

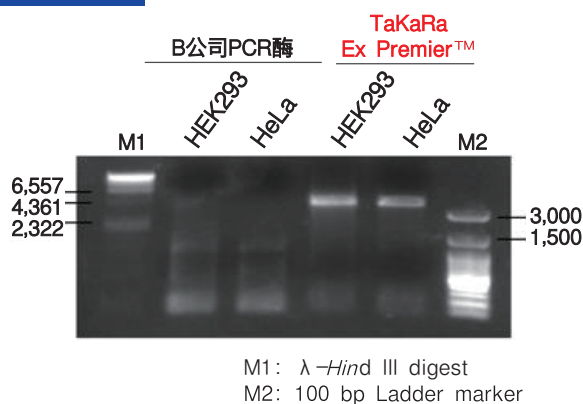
④ HDAC6的克隆

【数据提供】筑波大学医学医疗系皮肤科信田理沙老师

实验内容

克隆HDAC6作为定位标记对照。我们已经使用过了很多种PCR酶，即使摸索更改反应条件结果也不理想。因此我使用了TaKaRa Ex Premier™ DNA Polymerase试用装。

结果



样品: HEK293 cDNA, HeLa cDNA

目的基因: HDAC6

扩增片段大小: 3,648 bp

PCR条件

B公司PCR酶

98°C	30 sec
98°C	10 sec
55°C	15 sec
72°C	2 min
72°C	10 min
4°C	∞

35 cycles

TaKaRa Ex Premier

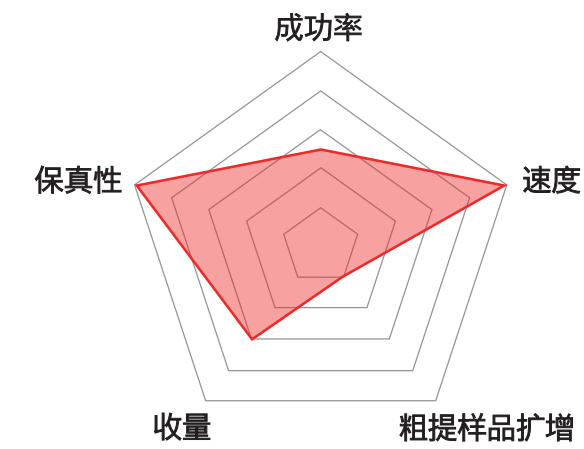
94°C	1 min
98°C	10 sec
55°C	15 sec
68°C	2 min
72°C	7 min
4°C	∞

35 cycles

对产品的评价

使用其他公司的酶反复摸索条件也没有结果，使用TaKaRa Ex Premier一次就扩增成功了，这帮了我大忙。

PrimeSTAR® Max DNA Polymerase



制品特点

- Takara保真性最高、延伸速度最快的PCR酶
- 利用酶自身的高priming效率和特别添加的延伸因子，可大幅度缩短退火和延伸时间，实现高速PCR反应
- 预混型试剂，配制反应液更加简单

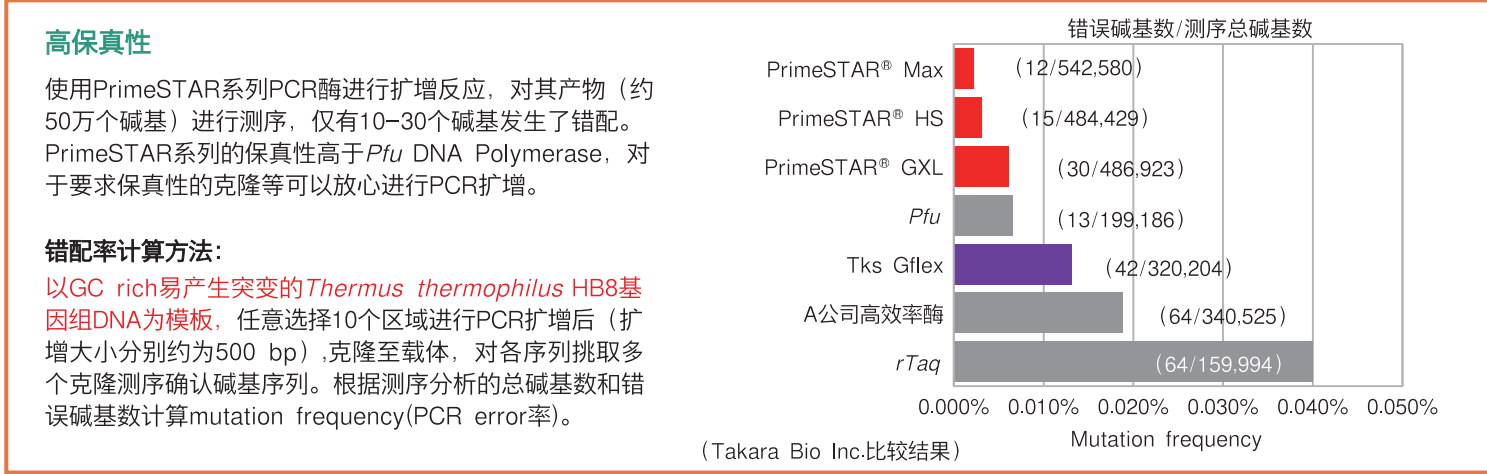
推荐的应用场景

- ✓ 希望最大限度的减少扩增错误
- ✓ 需要进行正确的克隆
- ✓ 希望在短时间内快速完成PCR

产品列表

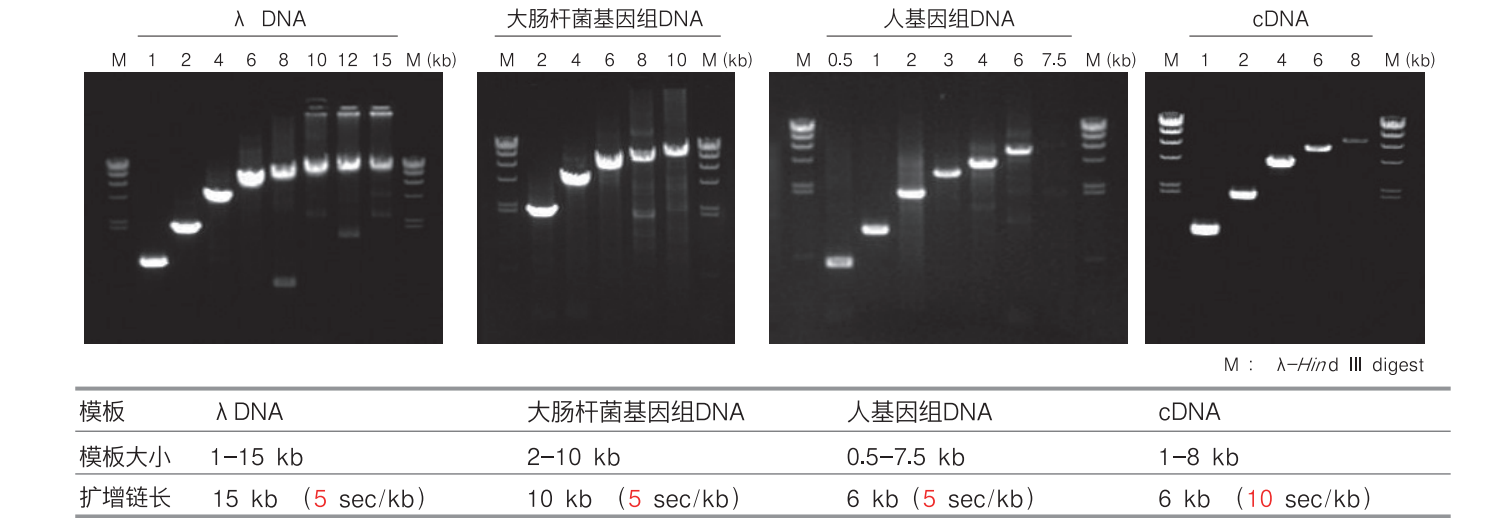
产品名称	包装量	Code No.
PrimeSTAR® Max DNA Polymerase	100 次	R045A
	400 次	R045B(A × 4)
	25 次	R045Q

PrimeSTAR®系列特点！



本公司实验数据

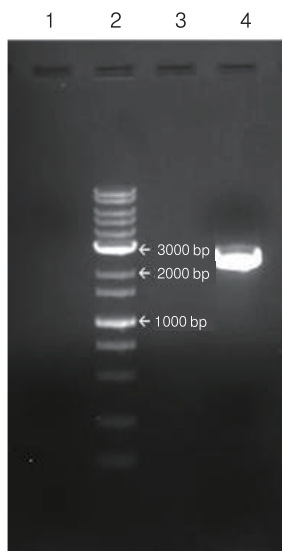
① 使用各种模板可获得的DNA片段大小（快速PCR反应）



用户案例分享

① 制备用于真核无细胞表达系统的模板DNA (3rd PCR)

【数据提供】 爱媛大学蛋白质科学中心生物分子工学部门小川敦司老师



Lane 1: PrimeSTAR Max (未加模板)
 2: Marker (某品牌1kb DNA ladder)
 3: - (空泳道)
 4: PrimeSTAR Max (添加模板)

样本: 两种合成质粒的连接产物

目的基因: CrPV IRES-YPet基因

扩增片段大小: 2,217 bp

GC含量: 54%

PrimeSTAR Max的PCR条件

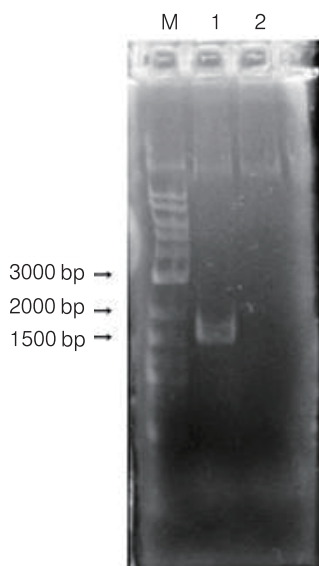
98°C	10 sec	} 30 cycles
55°C	5 sec	
72°C	15 sec	

对产品的评价

我们使用PrimeSTAR® 已超过10年, 因为我们的无细胞表达系统中使用的DNA必须通过多次PCR制备。(在过去10年提交的论文中几乎所有实验部分都提到了PrimeSTAR®。)自从10多年前与其他公司的产品对比了保真性和扩增性能之后, 我们就一直使用PrimeSTAR®这个产品。虽然无法提供比较数据等信息, 但我们充分信任它。

② 多形拟杆菌(*Bacteroides thetaiotaomicron*)BT0455基因的克隆

【数据提供】 A研究所B老师



Lane M: NEB 2-Log DNA Ladder
 1: PrimeSTAR Max DNA Polymerase
 2: D公司高保真PCR酶

样本: *Bacteroides thetaiotaomicron* 基因组DNA

目的基因: BT0455基因

扩增片段大小: 1,602 bp

GC含量: 占基因全长的44.4%, 但局部有GC富集区

PCR条件:

PrimeSTAR Max

98°C	5 sec	} 30 cycles
98°C	10 sec	
55°C	15 sec	
72°C	2 min	

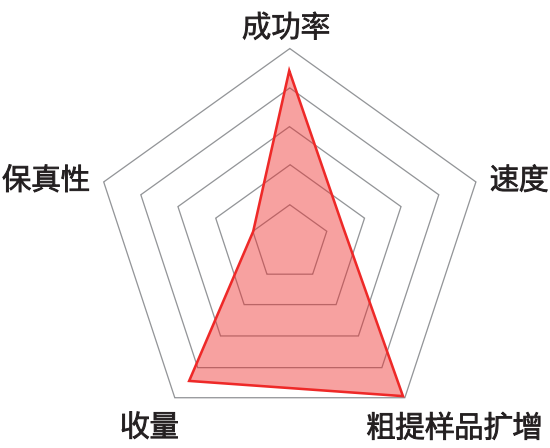
D公司高保真PCR酶

94°C	2 min	} 30 cycles
98°C	10 sec	
65°C	2 min 30 sec	

对产品的评价

我尝试使用D公司的PCR酶对目标基因进行PCR扩增, 但没有成功, 因此我使用PrimeSTAR® Max DNA聚合酶进行了扩增。对扩增片段进行克隆并确认核酸序列, 未发现错误。

MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.3



■ 制品特点

- 与Ver.2产品相比，对PCR阻害物的抵抗性进一步增强
- 将血液、动植物组织等生物样品直接加入反应液中进行Direct PCR的性能也得到明显增强
- 无论是PCR阻害物含量较多的粗提样品还是GC/AT rich的模板，均可在宽广的范围内对多种模板进行有效扩增

■ 推荐的应用场景

- ✓ 想对样品进行直接PCR
- ✓ 想对粗提样品进行PCR，尤其是基因分型

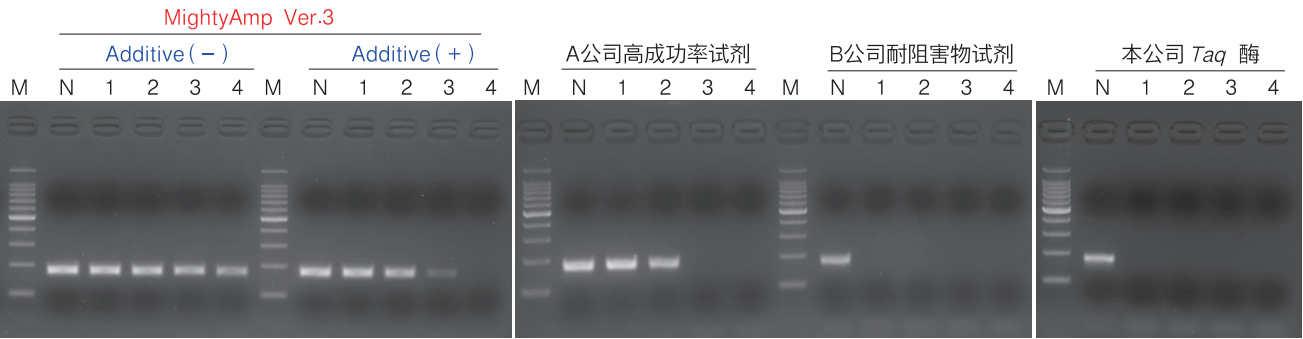
■ 产品列表

产品名称	包装量	Code No.
MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.3	250 U (200 次×50 μl反应体系)	R076A
	1,000 U (800 次×50 μl反应体系)	R076B(A×4)

■ 本公司实验数据

① 高浓度腐殖酸存在下的PCR

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。本制品耐腐殖酸的能力明显高于已有的PCR酶，可提高含有大量土壤成分粗提样品的PCR反应成功率。



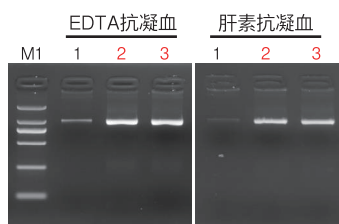
Lane N: 腐殖酸 0 μg
1: 0.1 μg
2: 0.2 μg
3: 0.3 μg
4: 0.4 μg/25 μl反应体系
M: 100 bp DNA Ladder

- 模板：大肠杆菌基因组DNA (相当于 2×10^5 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，除了含腐殖酸的样品以外，对于含海水等高盐的反应体系、含有大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，使用本制品与使用已有的PCR酶相比，也同样能够获得更好的扩增结果。

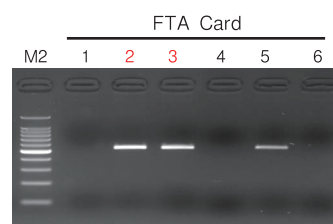
② 血液&FTA卡的Direct PCR



- **模板** : 人EDTA抗凝血和肝素抗凝血 (5 μ l/25 μ l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)
 2: MightyAmp Ver.3 Additive (-)
 3: MightyAmp Ver.3 Additive (+)
 4: 本公司 *Taq* 酶
 5: A公司高成功率酶
 6: B公司耐损害物酶

M1: DL2,000 DNA Marker
 M2: 100 bp DNA Ladder



- **模板** : 直径为1.2 mm的打孔钳剪下的Mouse Blood FTA Card/25 μ l反应体系
- **目的基因** : *Hbb-b1* 542 bp
- **在推荐的反应条件下进行PCR反应** (3 step PCR)

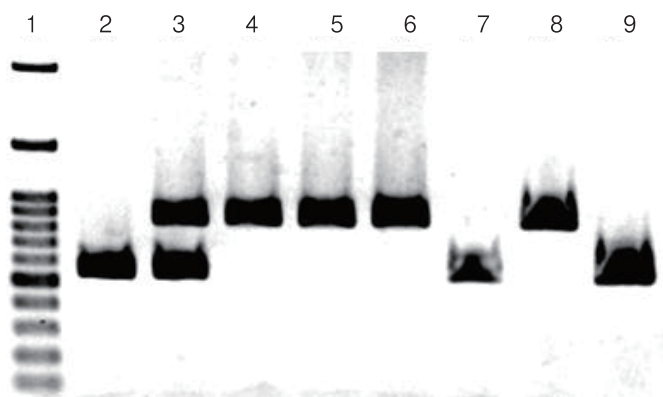
(Takara Bio Inc.比较结果)

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

■ 用户实例分享

① 小鼠基因分型

【数据提供】K大学 I老师



Lane1: 分子量标记
 2: KO
 3: 杂合
 4: WT
 5: WT
 6: WT
 7: KO
 8: WT
 9: KO

样品: 小鼠基因组DNA

目的基因: 野生型等位基因&敲除后等位基因

扩增产物大小: WT=873 bp, KO=570 bp

MightyAmp Ver.3的PCR条件:

98°C	10 sec	} 27 cycles
60°C	15 sec	
68°C	1 min	

■ 结果

制备用于小鼠基因分型的基因组DNA时, 通常用蛋白酶K裂解小鼠尾巴, 然后对裂解物进行苯酚/氯仿处理, 乙醇沉淀。苯酚/氯仿处理需要重复多次, 直至离心后界面处的蛋白质消失。而MightyAmp™ 以擅长扩增粗提样品而闻名, 因此我们将用蛋白酶K处理的裂解液再用苯酚/氯仿仅处理一次, 结果仍能有效扩增且没有非特异性条带, 大大缩短了实验时间。

以下是用户对本手册中介绍的PCR酶的评价，请在选购时作为参考！



TaKaRa Ex Premier™ DNA Polymerase



M研究室 M老师

就连几乎没有PCR实验经验的学生，也能扩增得到目标DNA条带。因为使用的是Dye plus版本，从PCR到电泳的实验操作很简单。

预混型版本并且不冻结，易于操作。此外，即使使用粗提样本也可以进行基因扩增，并且保真性高，因此可以方便地通过Sanger测序直接进行测序。



K大学 K老师



N大学 M老师

我们尝试了多种含染料的PCR酶，但都存在扩增效果不佳和反应时间太长等问题。这款酶反应时间比较短，并且对多种目的基因的扩增性能都经过验证，所以我认为值得一试。

PrimeSTAR® Max DNA Polymerase



H大学 K老师

即使对5 kb或更长的片段也很容易扩增，并且保真性很高。到目前为止，我已经用这种酶做了很多次PCR，从未发生过突变。

PCR足够快速并且保真性强。之前没做出来的PCR使用了PrimeSTAR Max后都成功了。由于它是2x预混液，所以很容易制备反应液，因此建议使用。



T大学 T老师

MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.3



A公司 E老师

整个小鼠基因分型过程可以在半天之内完成。

自从使用MightyAmp之后，实验失败的次数大大减少了。



K大学 I老师



H大学 N老师

因为可以从粗样品进行扩增，所以请体验一次。

- 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2023年4月1日的信息，最新信息请参考公司官网。

Ver.1 2023年4月印刷 3K