

# 适用于NGS文库构建的PCR酶

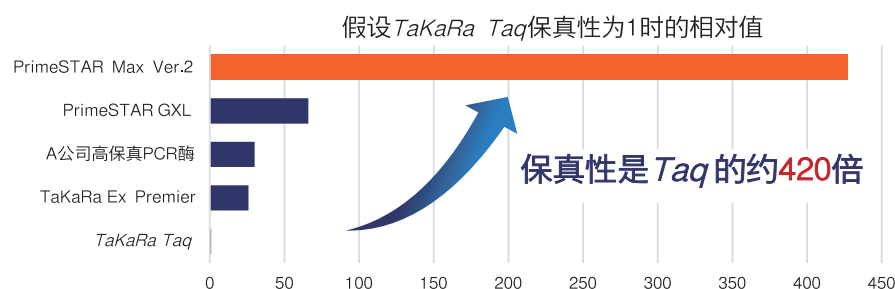
that's  
GOOD  
science!

构建测序文库，是NGS实验流程非常关键的步骤，直接影响测序质量。适合NGS文库构建的PCR酶，需要具有高保真、低扩增偏差、以及能够无偏倚地扩增不同大小和GC含量的靶标等优势，因此需要谨慎选择。

Takara公司作为PCR酶领域的重要企业，有非常多品质高的高保真酶。其中高保真DNA聚合酶PrimeSTAR® Max DNA Polymerase Ver.2，具有高效、高保真和低偏好等特点，能够应对NGS文库扩增的挑战。

## 高保真性

构建文库过程中的突变会给后续序列拼接造成困难，甚至可能会干扰某些需要低频检测的分析结果，因此高保真性的扩增是非常重要的。Takara PrimeSTAR系列高保真酶凭借其错配率低、保真性高、性能卓越等优势而畅销，赢得了众多科研人员的倾心与认可。PrimeSTAR® Max DNA Polymerase (Ver.2) 更是该系列中保真性最高、反应（延伸）速度最快的高保真酶。



以λ DNA (10 kb) 为模板进行PCR反应，通过分析PCR产物的碱基序列，评估各个PCR酶的保真性。PrimeSTAR® Max DNA Polymerase Ver.2显示出与同类型产品相比最高的保真性，大约是TaKaRa Taq™的420倍。

(Takara Bio Inc.比较结果)

## 高的文库质量

Takara Bio研究团队比较了PrimeSTAR® Max DNA Polymerase (Ver.2) 与K公司和N公司的高保真PCR酶/PCR Premix用于NGS的文库扩增。分别以100 ng的200 bp和300 bp HL60 DNA fragments为模板，构建测序文库，其中分别使用上述三种不同的高保真PCR酶/PCR Premix进行扩增（使用各公司推荐的体系和程序进行PCR扩增）。之后使用Illumina NovaSeq X (PE150) 测序，Downsampling至60M reads进行数据分析。

(以下数据来源于Takara Biomedical Tech. Co., Ltd. 比较结果)

### 文库产量评价

保证文库产量，有利于足够用于质检和后续上机测序。从以下结果可以看出，PrimeSTAR Max DNA (Ver.2) 相较于其他两种同类产品，有更高的文库产量。

#### ★ 200 bp Fragments

| Sample                | Concentration (ng/μl) | Average (ng/μl) | library size(bp) (200bp-1000bp) | Average (bp) |
|-----------------------|-----------------------|-----------------|---------------------------------|--------------|
| K产品                   | 5.08                  | 5.14            | 384                             | 385          |
|                       | 5.20                  |                 | 385                             |              |
| PrimeSTAR Max (Ver.2) | 5.64                  | 5.68            | 396                             | 396          |
|                       | 5.71                  |                 | 396                             |              |
| N产品                   | 5.37                  | 5.27            | 374                             | 375          |
|                       | 5.17                  |                 | 375                             |              |

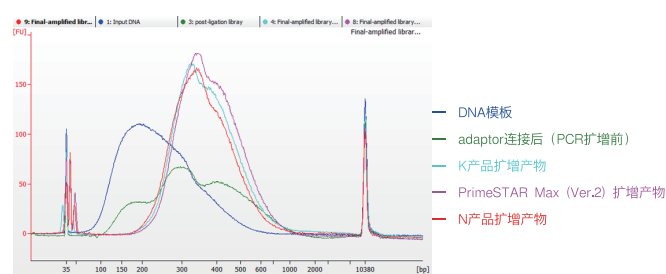
#### ★ 300 bp Fragments

| Sample                | Concentration (ng/μl) | Average (ng/μl) | library size(bp) (200bp-1000bp) | Average (bp) |
|-----------------------|-----------------------|-----------------|---------------------------------|--------------|
| K产品                   | 5.21                  | 5.21            | 456                             | 458          |
|                       | 5.2                   |                 | 460                             |              |
| PrimeSTAR Max (Ver.2) | 6.31                  | 6.32            | 468                             | 468          |
|                       | 6.32                  |                 | 468                             |              |
| N产品                   | 5.02                  | 4.99            | 435                             | 435          |
|                       | 4.95                  |                 | 434                             |              |

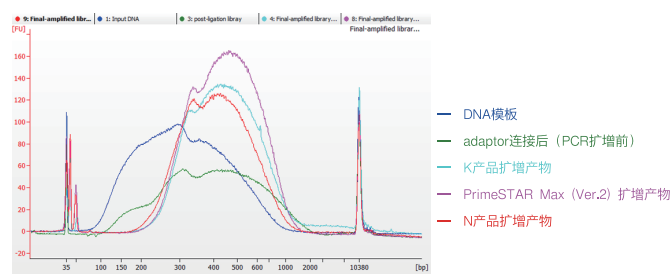
### 文库片段长度评价

上机文库的质量评价指标之一是文库片段长度。过低的片段长度可能是引物二聚体，过高的片段长度(远高于DNA片段加接头的长度)则为大片段，大小片段的存在都会影响测序数据量的产出。从以下结果可以看出，不同酶扩增的文库片段长度无明显差异。

#### ★ 200 bp Fragments



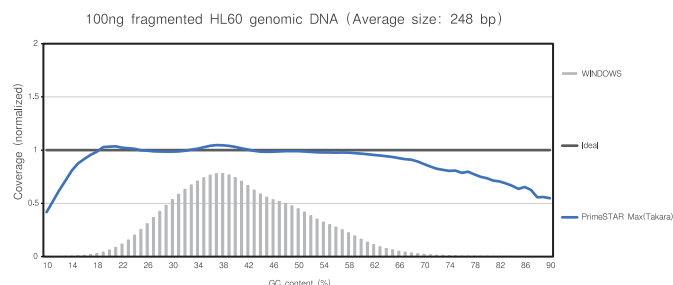
#### ★ 300 bp Fragments



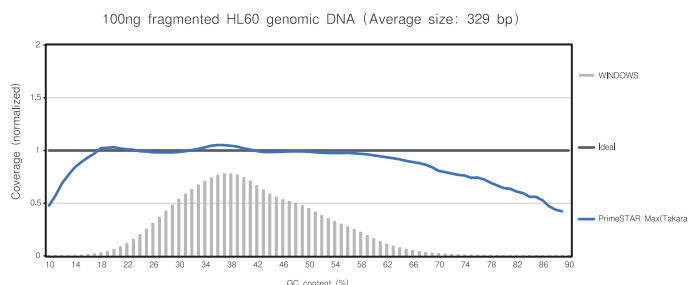
## GC覆盖度评价

实现一致、均一的GC覆盖度并不容易，要求文库构建系统对不同GC含量的基因组都能提供正确、均一的覆盖。以下结果表明，PrimeSTAR Max DNA (Ver.2) 表现了高覆盖率和良好的覆盖率均匀度。

### ★ 200 bp Fragments



### ★ 300 bp Fragments



## 测序分析结果

下表数据显示，三者构建的文库的reads数据量、重复率均一性基本相当！

| Input            | PCR reagents              | Average yield(ng) | Total reads aligned | % reads aligned | % chimera | % duplicates |
|------------------|---------------------------|-------------------|---------------------|-----------------|-----------|--------------|
| 200 bp Fragments | PrimeSTAR Max DNA (Ver.2) | 141.9             | 1.07E+08            | 97.3%           | 12.5%     | 8.3%         |
|                  | K产品                       | 128.5             | 1.08E+08            | 97.3%           | 13.1%     | 7.6%         |
|                  | N产品                       | 131.8             | 1.07E+08            | 97.0%           | 15.3%     | 8.1%         |
| 300 bp Fragments | PrimeSTAR Max DNA (Ver.2) | 157.9             | 1.04E+08            | 97.2%           | 9.7%      | 11.1%        |
|                  | K产品                       | 130.1             | 1.04E+08            | 97.3%           | 9.6%      | 10.8%        |
|                  | N产品                       | 124.6             | 1.04E+08            | 97.0%           | 11.6%     | 10.7%        |



以上实验结果说明，PrimeSTAR® Max DNA Polymerase (Ver.2) (Code No.R047A/S) 是NGS文库扩增的优选酶。

| 产品名称                                | Code No. | 包装量 (50 µl反应体系) |
|-------------------------------------|----------|-----------------|
| PrimeSTAR® Max DNA Polymerase Ver.2 | R047A    | 100 Rxns        |
|                                     | R047S    | 25 Rxns         |



Takara微信



Takara微博



Takara官网



B站

- 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2025年1月1日的信息，最新信息请参考公司官网。

Ver.1 2025年1月印刷 3k 25001