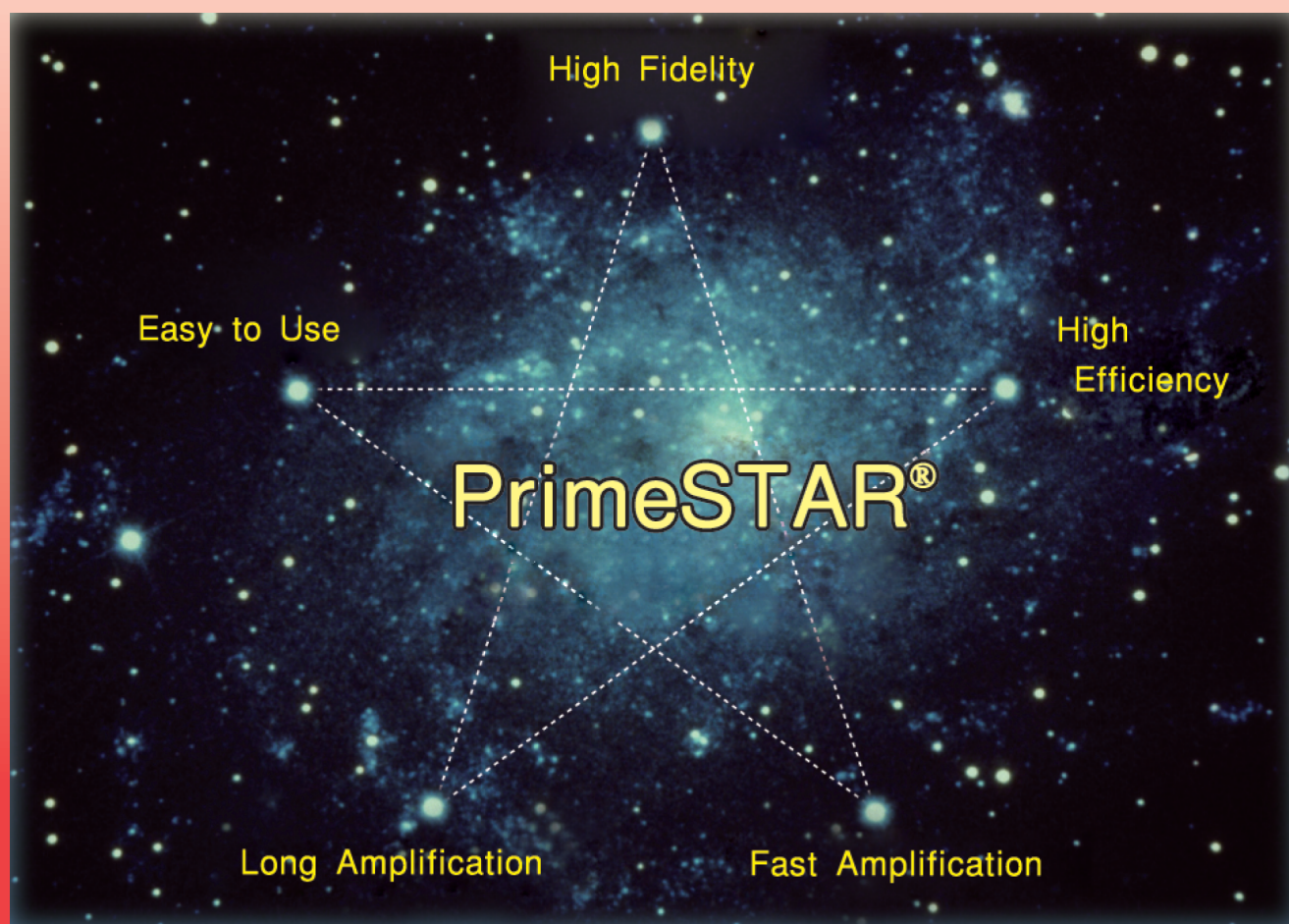


高保真性PCR用聚合酶 PrimeSTAR® 系列



Takara Bio推荐PrimeSTAR®系列!

that's
GOOD
science!

酶	保真性	延伸速度	GC or AT rich 模板的扩增	重复序列 的扩增	模板添加量 范围	扩增片段大小标准 (人基因组DNA)	Premix type	登载页
PrimeSTAR® HS DNA Polymerase	★★★★★	★★	★★★	★★	★★	~ 8.5 kb	有	p.2
PrimeSTAR® Max DNA Polymerase	★★★★★	★★★★★	★★★	★★★★★	★★★★★	~ 6 kb	○	p.7-9
PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase	★★★★★	★★★★★	★★★★★	★★★★★	★★★★★	~ 30 kb	有	p.3-6

PrimeSTAR®系列特点

PCR反应中使用的耐热性DNA Polymerase从构造上大体分为以下两种类型：

- 以 *Taq* DNA Polymerase 为首的
嗜热性真细菌来源的 **Pol I 型 (family A) DNA聚合酶**
- 以 *Pfu* DNA Polymerase 为代表的
超嗜热性古细菌来源的 **α 型 (family B) DNA聚合酶**

一般Pol I 型聚合酶都有很强的延伸活性，但不具有3'→5' exonuclease活性，因TdT (Terminal deoxynucleotidyl Transferase) 活性使PCR产物的3'-末端附加一个“dA”碱基。而α型DNA聚合酶虽有更强的耐热性，显示出很强的3'→5' exonuclease活性，但延伸速度慢，PCR扩增产物的3'-末端为平滑末端。

PCR用聚合酶的类型	Pol I 型 (family A)	α 型 (family B)
来源	Prokaryote	Archaea
3'-5' exonuclease活性	×	○
5'-3' exonuclease活性	○	×
PCR扩增产物的3'-末端形状	附加“dA”碱基	平滑末端
酶名称	▪ <i>Taq</i> 系列 ▪ EmeraldAmp等	▪ PrimeSTAR系列 ▪ <i>Pfu</i> 等

高保真聚合酶大部分都是α型DNA聚合酶

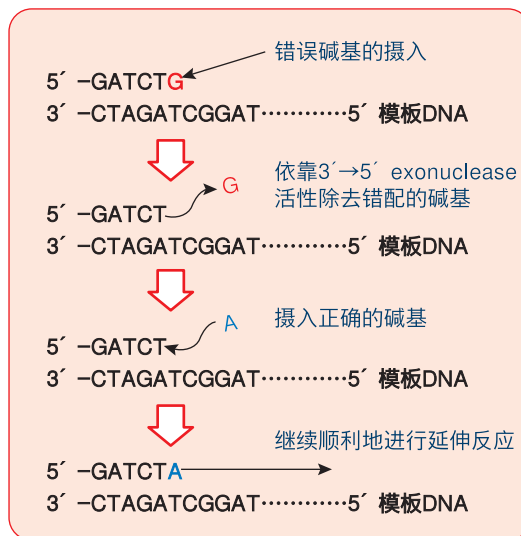
在DNA Polymerase作用下，DNA由5'→3'方向合成复制时，有时会出现错误碱基的摄入，此时α型聚合酶依靠所具有的3'→5' exonuclease活性将错配的碱基除去，摄入正确的碱基，继续顺利地进行延伸反应。因此，α型聚合酶在DNA合成中的保真性大大高于Pol I型聚合酶。

但是，以往的α型聚合酶存在以下几个缺点：

- 反应时间长。
- 扩增效率低，不适用于大片段DNA以及GC rich、AT rich靶基因的扩增。
- 模板DNA的使用量范围小，模板使用量多时对PCR反应有阻害作用。
- 反应条件要求繁琐，不利于操作。



Takara Bio的PrimeSTAR®系列产品是以「便于操作」「反应性能好」为理念研发的高保真聚合酶！



PrimeSTAR®系列特点！

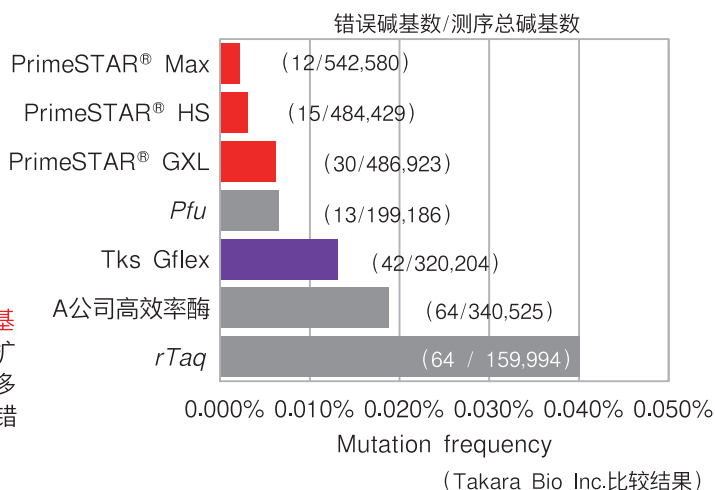
高保真性

使用PrimeSTAR系列PCR酶进行扩增反应，对其产物（约50万个碱基）进行测序，仅有10-30个碱基发生了错配。

PrimeSTAR系列的保真性高于*Pfu* DNA Polymerase，对于要求保真性的克隆等可以放心进行PCR扩增。

错配率计算方法：

以GC rich易产生突变的*Thermus thermophilus* HB8基因组DNA为模板，任意选择10个区域进行PCR扩增后（扩增大小分别约为500 bp），克隆至载体，对各序列挑取多个克隆测序确认碱基序列。根据测序分析的总碱基数和错误碱基数计算mutation frequency (PCR error率)。

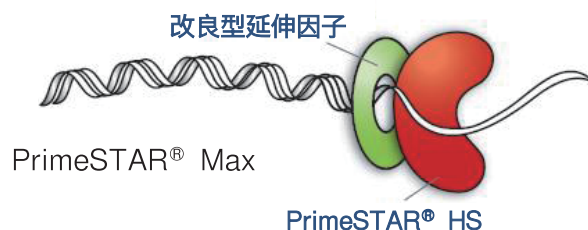


PrimeSTAR® Max及GXL，采用特别开发的延伸因子，进一步提升扩增速度及延伸性能

在生物体内，DNA Polymerase通过与延伸因子形成复合体后进行DNA的复制。

PrimeSTAR Max是在PrimeSTAR HS的基础上，通过添加本公司特别开发的延伸因子，从而达到与生物体内DNA复制同样高的保真性和快速性。

(PrimeSTAR® GXL请参照page3)



高性价比的基础型高保真PCR酶

■ 产品信息

基础型高保真PCR酶

PrimeSTAR® HS DNA Polymerase

使用便捷的Premix型

PrimeSTAR® HS (Premix)

GC rich基因高保真扩增PCR酶

PrimeSTAR® HS DNA Polymerase with GC Buffer

Code No.	包装量
R010A	250 U
R010B (A × 4)	1,000 U

Code No.	包装量
R040A	50 µl 反应 × 100 次

Code No.	包装量
R044A	250 U
R044B	1,000 U

- **校正活性强**，具有高效的3'→5' exonuclease活性
- Priming效率高，退火时间设置为**5~15 秒**即可实现特异性高的PCR扩增
- PrimeSTAR®系列中**性价比最高**

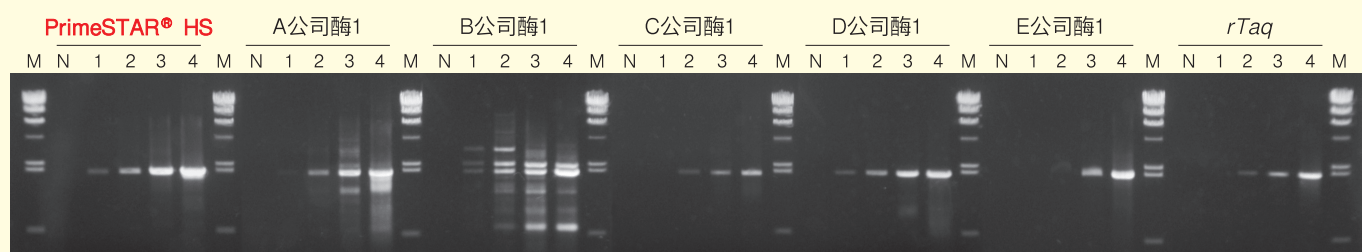
■ 实验数据

【1】PrimeSTAR® HS与各公司高保真PCR酶扩增效率的比较

【实验条件】 模板 : 人基因组DNA
目的基因 : *DCLRE1A* 基因 (2 kb)
PCR条件 : 30 cycles
PrimeSTAR® HS的反应条件: 98°C 10 sec
55°C 5 sec
72°C 2 min } 30 Cycles
其他公司试剂: 使用各公司推荐的操作流程

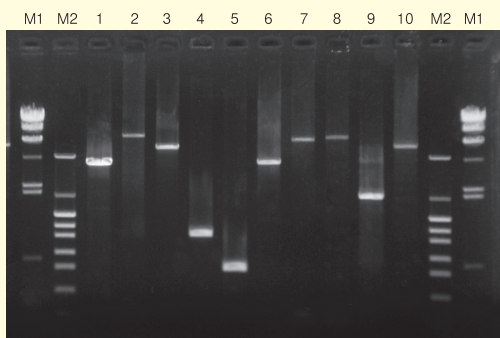
模板使用量 (50 µl反应体系)
Lane N : Negative Control (无模板)
1 : 100 pg
2 : 1 ng
3 : 10 ng
4 : 100 ng
M : λ-Hind III digest

(Takara Bio Inc.比较结果)



➡ PrimeSTAR® HS同其他公司高保真PCR酶相比，即使在模板量很少的情况下也能高效率地扩增。

【2】在同一反应条件下使用PrimeSTAR® HS对各种片段大小的不同靶基因进行PCR扩增



靶基因:
Lane 1 : *DCLRE1A* 4 kb
2 : β-globin 8.5 kb
3 : β-globin 6 kb
4 : *DCLRE1A* 1 kb
5 : p53 0.5 kb
6 : p53 4 kb
7 : β-globin 7.5 kb
8 : *DCLRE1A* 8 kb
9 : *DCLRE1A* 2 kb
10 : p53 6 kb
M1 : λ-Hind III digest
M2 : pHY Marker

【实验条件】

模板:
100 ng人基因组DNA
(50 µl反应体系)
反应条件:
98°C 10 sec
68°C 8 min } 30 Cycles

➡ PrimeSTAR® HS对0.5~8.5 kb的靶基因都可高效率地进行扩增。

高通用性高保真PCR酶的新选择

产品信息

对于追求保真性的长链扩增能够发挥优势

PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase

Code No.	包装量
R050A	50 μl 反应体系 × 200 次
R050B (A × 4)	50 μl 反应体系 × 800 次

与PrimeSTAR® GXL性能相当的Premix型产品

PrimeSTAR® GXL Premix

NEW

Code No.	包装量
R051A	50 μl 反应体系 × 200 次
R051B (A × 4)	50 μl 反应体系 × 800 次

- 对于人基因组DNA能够进行30 kb左右的长链扩增
- 可对应GC rich, AT rich及高模板量, 是一款兼具高通用性的高保真酶
- 选用2倍酶量的操作流程, 能达到10 秒/kb的高速反应 (*1)

※1: 只有R050A/B对应。

PrimeSTAR® GXL采用的技术

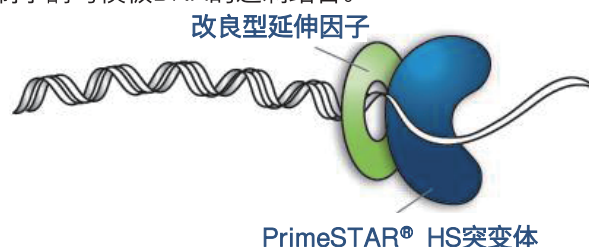
● 突变型酶, 能够抑制非特异结合

DNA Polymerase本身与模板DNA结合时会阻碍引物的延伸。一般的α型酶容易产生非特异结合, 使PCR扩增难以进行。为改善该情况, 我们对PrimeSTAR® HS进行了改良, 成功的抑制了酶与模板DNA的过剩结合。

● 采用特别开发的延伸因子

在生物体内, DNA Polymerase通过与延伸因子形成复合体进行PCR反应。

改良型DNA聚合酶与本公司特别开发的延伸因子相组合, 形成具有更高延伸性和通用性的PCR酶。

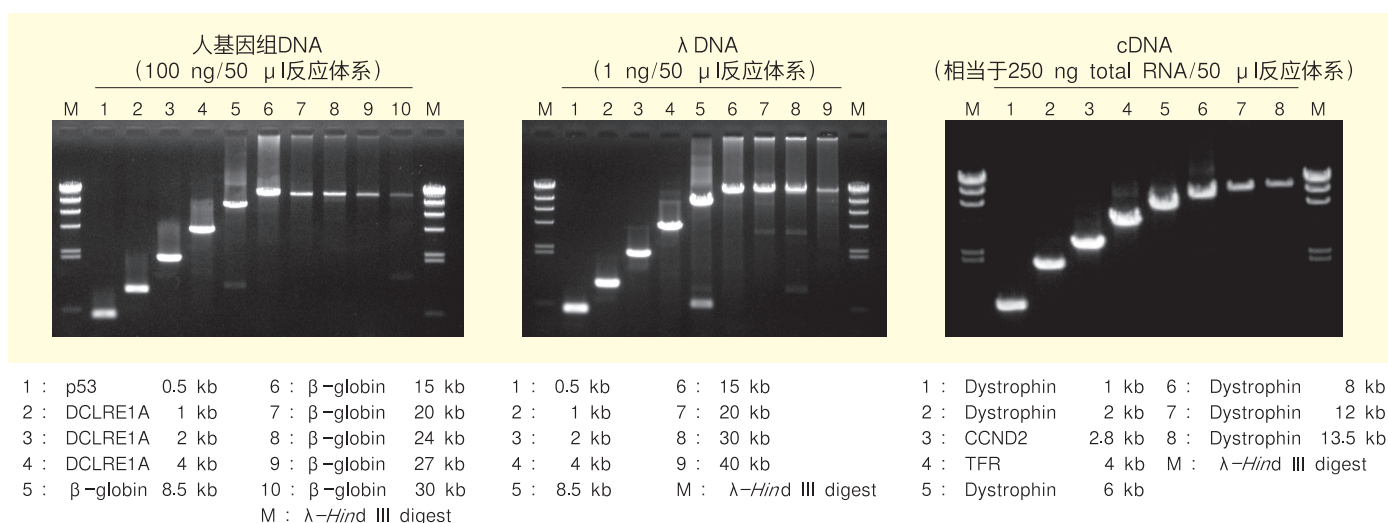


PrimeSTAR® HS突变体

实验数据

【1】长链目的基因的扩增

【方法】 根据PrimeSTAR® GXL的推荐条件, 扩增不同模板的目的基因。



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对各种靶基因都具有良好的延伸性。

【2】扩增GC rich目的基因的反应性比较（同其他公司高保真PCR酶的比较）

目的基因富含GC序列时，经常会导致PCR难以扩增。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，对其反应性能进行比较。

模板：人基因组DNA (100 ng/50 μ l反应体系)

靶基因：

Lane 1: APOE 746 bp (GC含量 74%)

2: TGF β 1 2,005 bp (GC含量 69%)

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

靶基因：

Lane 3: 2,029 bp (GC含量 74%)

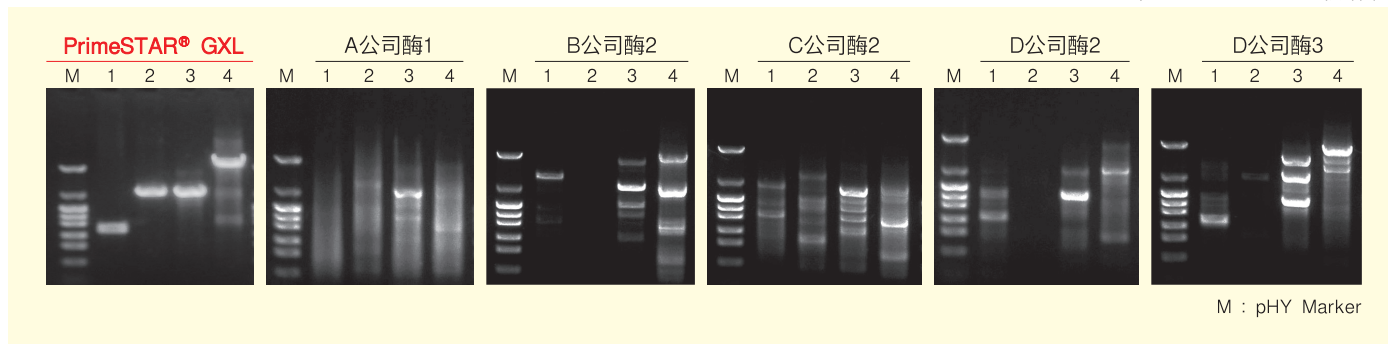
4: 4,988 bp (GC含量 74%)

各公司的反应条件：

D公司酶3：适用于GC rich模板

B公司酶2：使用GC Buffer

(Takara Bio Inc.比较结果)



➡ PrimeSTAR® GXL对GC rich的模板可进行高效率扩增，同时也显示出很高的反应特异性。

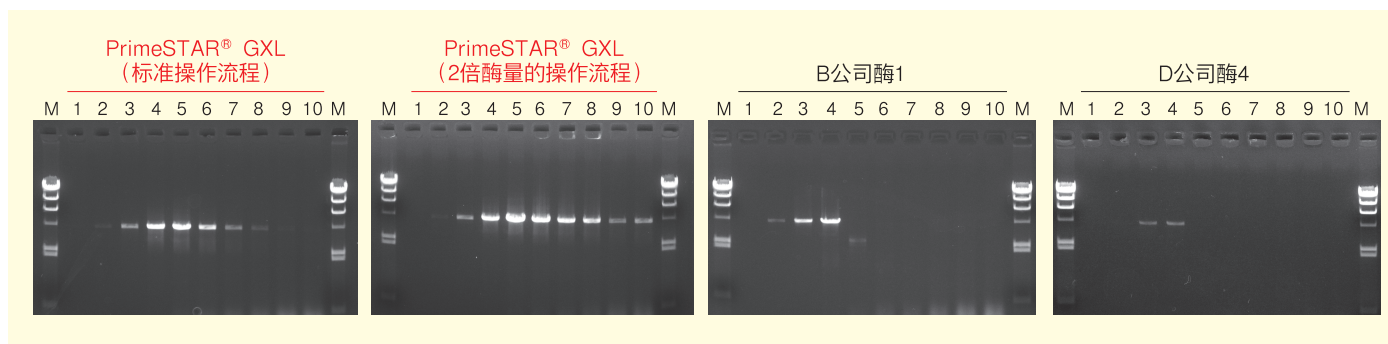
【3】反应灵敏度和模板使用量范围（同其他公司酶及2倍酶使用量的比较）

PCR产物克隆时，因要求扩增产物的保真性，经常会使用高保真PCR酶。

但是，通常的高保真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。以下以cDNA为模板，使用各公司的高保真PCR酶进行PCR扩增反应，对模板使用量进行研讨。

【方法】从HL60细胞中提取Total RNA进行反转录反应得到cDNA，以该cDNA为模板，对4 kb的TFR基因进行PCR扩增，确认不同模板量对扩增反应的影响。反应液配制及PCR条件按各酶推荐的操作流程进行。

(Takara Bio Inc.比较结果)



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

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

98°C 30 sec
↓
98°C 5 sec
60°C 10 sec
68°C 1 min
↓
72°C 5 min
30 Cycles

94°C 1 min
↓
98°C 20 sec
60°C 20 sec
68°C 2 min
↓
72°C 3 min
30 Cycles

模板使用量：cDNA（相当于Total RNA量）50 μ l反应体系

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

➡ 同其他公司酶相比，PrimeSTAR® GXL可以在宽广浓度范围内对cDNA进行良好的扩增。
同时按照PrimeSTAR® GXL 2倍酶量说明操作时，确认反应能够快速进行且模板使用量范围更广。

★ PrimeSTAR® GXL对于重复序列的模板也能够发挥正确扩增的威力。详见P7实验例【2】

■ PrimeSTAR GXL DNA Polymerase相关参考文献

目标序列重测序

癌症 | Illumina测序

Sakaguchi, H., *et al.* Exome sequencing identifies secondary mutations of *SETBP1* and *JAK3* in juvenile myelomonocytic leukemia. *Nature Genetics* **45**, 937–941 (2013).

法医学 | 环境微生物学

Kakizaki, E., *et al.* Detection of diverse aquatic microbes in blood and organs of drowning victims: First metagenomic approach using high-throughput 454-pyrosequencing. *Forensic Sci.* **220**, 135–146 (2012).

免疫学

Hosomichi, K., *et al.* Phase-defined complete sequencing of the HLA genes by Next-Generation Sequencing. *BMC Genomics* **14**, 355 (2013).

Izawa, K., *et al.* Detection of base substitution-type somatic mosaicism of the NLRP3 gene with >99.9% statistical confidence by massively parallel sequencing. *DNA Res.* **19**, 143–152 (2012).

Shiina, T., *et al.* Super high resolution for single molecule-sequence-based typing of classical HLA loci at the 8-digit level using next generation sequencers. *Tissue Antigens* **80**, 305–316 (2012).

病原体

Al-Khedery, B., *et al.* Structure of the type IV secretion system in different strains of *Anaplasma phagocytophilum*. *BMC Genomics* **13**, 678 (2012).

Novitsky, V., *et al.* Long-range HIV genotyping using viral RNA and proviral DNA for analysis of HIV drug resistance and HIV clustering. *J. Clin. Microbiol.* **53**, 2581–2592 (2015).

Ode, H., *et al.* Quasispecies analyses of the HIV-1 Near-full-length genome with illumina MiSeq. *Front. Microbiol.* **6**, 1258 (2015).

Takeda, T. S., Sugiyama, M. A. & Kanto, T. A. Establishment of a practical workflow using a next generation sequencer to search for novel SNPs associated with the anti – HCV treatment response. *Juntendo Med. J.* **60**, 568–575 (2014).

干细胞 | Illumina测序

Sugiura, M., *et al.* Induced pluripotent stem cell generation-associated point mutations arise during the initial stages of the conversion of these cells. *Stem Cell Reports* **2**, 52–63 (2013).

*also used Titanium Taq

HLA分型

常规的

Hosomichi K. *et al.* Phase-defined complete sequencing of the HLA genes by next-generation sequencing. *BMC Genomics* **28**, 355 (2013).

Hosomichi, K., Shiina, T., Tajima, A. & Inoue, I. The impact of next-generation sequencing technologies on HLA research. *J. Hum. Genet.* **60**, 665–73 (2015).

Mayor, N. P. *et al.* HLA typing for the next generation. *PLoS One* **10**, (2015). Shiina, T. *et al.* Rapid evolution of major histocompatibility complex class I genes in primates generates new disease alleles in humans via hitchhiking diversity. *Genetics* **173**, 1555–1570 (2006).

高通量应用

Ehrenberg, P. K. *et al.* High-throughput multiplex HLA genotyping by next-generation sequencing using multilocus individual tagging. *BMC Genomics* **15**, 864 (2014).

Ozaki, Y., *et al.* HLA-DRB1, -DRB3, -DRB4 and -DRB5 genotyping at a super-high resolution level by long range PCR and high-throughput sequencing. *Tissue Antigens* **83**, 10–16 (2014).

Superior amplification of GC-rich templates with PrimeSTAR GXL DNA Polymerase

Data kindly provided by: Alexander Ebralidze, Scientist, Beth Israel Deaconess Medical Center

Introduction

PCR amplification of GC-rich templates is often hindered by formation of secondary structures and the requirement for high melting temperatures. **PrimeSTAR GXL DNA Polymerase** is a high-fidelity PCR enzyme that allows efficient amplification of the most challenging templates. With this enzyme, amplification of GC-rich templates is possible without reaction optimization or inclusion of additives such as DMSO or Betaine.

In this experiment, PrimeSTAR GXL DNA Polymerase was compared to other commercially available enzymes for the amplification of a target with high GC content. Only the PrimeSTAR GXL enzyme was able to efficiently amplify the GC-rich template without additives or special reaction conditions.

Results

Under standard reaction conditions, only PrimeSTAR GXL DNA Polymerase produced a single amplification product of the expected size (Figure 1). PCR product was successfully obtained with the competitor enzymes only when the reactions included DMSO (5% final) and Betaine (1 M final) (Figure 2, left). Very little product was obtained with PrimeSTAR GXL polymerase in the presence of these additives (Figure 2, right).

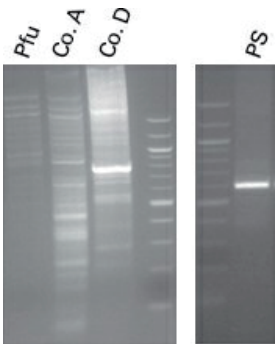


Figure 1. Amplification products obtained under standard reaction conditions. The expected product size is 603 bp. Pfu: Pfu polymerase; Co. A: Company A master mix; Co. D: Company D master mix; PS: PrimeSTAR GXL polymerase.

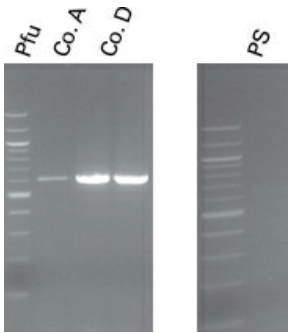


Figure 2. Amplification products obtained from reactions containing DMSO and Betaine. The expected product size is 603 bp. Pfu: Pfu polymerase; Co. A: Company A master mix; Co. D: Company D master mix; PS: PrimeSTAR GXL polymerase.

Conclusions

In this experiment, PrimeSTAR GXL DNA Polymerase was the only PCR enzyme able to amplify a sequence from template DNA with a GC content >75% without additives. PrimeSTAR GXL DNA polymerase was able to amplify this target without special reaction conditions (a standard two-step PCR protocol was used) and without additives. In contrast, all of the other competitor enzymes tested were only able to amplify when DMSO and Betaine were added to the reaction. These results indicate that **PrimeSTAR GXL DNA Polymerase** is ideal for optimization-free PCR amplification of GC-rich targets.

Methods

A 603-bp region of the *CEBPA* gene promoter that contains 75.29% GC content was amplified from human genomic DNA (isolated from the K562 cell line) using either PrimeSTAR GXL DNA Polymerase, a master mix from Company A, a master mix from Company D, or *Pfu* DNA polymerase. Reactions were assembled according to the manufacturer's recommendations. All reactions were run on a MultiGene Thermal Cycler (Labnet) following the cycling conditions in Table 1 below. Amplified products were analyzed by gel electrophoresis.

Table 1. PCR cycling conditions					
PrimeSTAR GXL polymerase (2-step PCR)			Company A, Company D, and <i>Pfu</i> polymerase (3-step PCR)		
98°C	10 sec	35 cycles	95°C	30 sec	35 cycles
68°C	20 sec		60°C	15 sec	
			72°C	30 sec	

以上信息来源于Takara Bio USA, Inc.网站，更多实验例分享请参考宝日医网站R050产品页面下方“Tech note”。

高水平的保真性和反应速度

产品信息

PrimeSTAR系列中反应速度最快&保真性最高

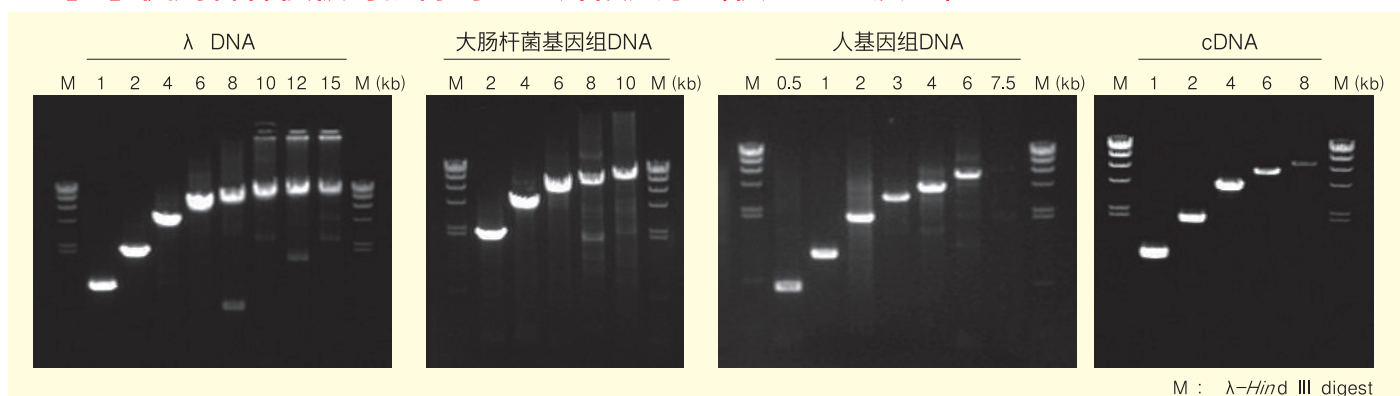
PrimeSTAR® Max DNA Polymerase
(Premix type)

Code No.	包装量
R045A	50 μl 反应体系 × 100次
R045B (A × 4)	50 μl 反应体系 × 400次

- 通过采用特别的延伸因子，实现**5~10 秒/kb**的快速反应
- Takara Bio PCR酶中**保真性最高**，尤其适用于PCR克隆
- 不仅单纯的错配率低，**重复序列的缺失及插入引起的突变率也很低**

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）



模板	λ DNA	大肠杆菌基因组DNA	人基因组DNA	cDNA
模板大小	1-15 kb	2-10 kb	0.5-7.5 kb	1-8 kb
PCR	98°C 10 sec 55°C 5 or 15 sec* 72°C 5 sec 30 cycles *Tm值 55°C以上时 5 sec 不足55°C时15 sec	98°C 10 sec 55°C 5 or 15 sec* 72°C 5 sec 30 cycles *Tm值 55°C以上时 5 sec 不足55°C时15 sec	98°C 10 sec 55°C 5 or 15 sec* 72°C 5 sec 30 cycles *Tm值 55°C以上时 5 sec 不足55°C时15 sec	98°C 10 sec 55°C 5 or 15 sec* 72°C 10 sec 30 cycles *Tm值 55°C以上时 5 sec 不足55°C时15 sec
扩增链长	15 kb (5 sec/kb)	10kb (5 sec/kb)	6 kb (5 sec/kb)	6 kb (10 sec/kb)

【2】重复序列的突变率

【方法】使用以下各酶扩增包含-(GA)₈-的重复序列500 bp(λ DNA来源的序列中插入重复序列)后，克隆至载体，挑取多个克隆确定序列，分析重复序列产生的错配率。

	全克隆数	重复序列的缺失·插入			突变克隆数	突变克隆的比例
		- 2(GA)	- 1(GA)	+ 1(GA)		
Taq	261	3	21	2	26	10.00%
PrimeSTAR® HS	250	5	25	2	32	12.80%
PrimeSTAR® Max	201	0	5	0	5	2.49%
PrimeSTAR® GXL	167	0	4	0	4	2.40%
A公司酶1 (α型)	131	2	15	1	18	13.74%
A公司酶2 (α型)	172	2	15	9	26	15.12%

已确认通过添加改良型延伸因子，大大提高了PrimeSTAR® Max和PrimeSTAR® GXL的持续合成能力，扩增重复序列时也表现出很好的正确性。

■ PrimeSTAR Max DNA Polymerase相关参考文献

快速PCR

药物代谢

Tanii, H., *et al.* Induction of Cytochrome P450 2A6 by bilirubin in human hepatocytes. *Pharmacol. Pharmacy* **4**, 182–190 (2013).

癌症 | 免疫学

Yamamoto, K., *et al.* A novel TRB@/NOTCH1 fusion gene in T-cell lymphoblastic lymphoma with t(7;9) (q34;q34). *European J. Haematology* **90**, 68–75 (2012).

病原体

Yamanaka, K., *et al.* Rapid detection for primary screening of influenza A virus: microfluidic RT-PCR chip and electrochemical DNA sensor. *Analyst* **136**, 2064–2068 (2011).

■ PrimeSTAR Max DNA polymerase相关Tech note

Go from DNA to data with a fast polymerase that's also astonishingly accurate

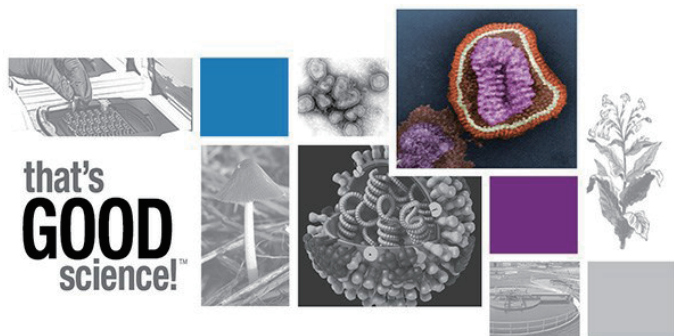
PrimeSTAR Max DNA Polymerase

- Highest fidelity of any commercially available polymerase
- Fastest extension speed available
- Formulated as a hot-start premix with dNTPs and buffer: just add primers, DNA, bring to final volume with dH₂O, and go.

Introduction

A fast polymerase for high fidelity PCR—save your sanity as well as your time

Let's face it, there's nothing more frustrating than a failed PCR. When all that stands between you and understanding your gene of interest is DNA amplification, every moment counts. Rely on **PrimeSTAR Max DNA Polymerase** for cloning and expression, structure-function, and genetic variation studies.



Using a fast polymerase to detect influenza. Scientists at Osaka University developed a microfluidic device for rapid detection of influenza A (shown in color in the figure above). Using a mix of PrimeScript RTase, PrimeSTAR Max polymerase, and SpeedSTAR polymerase, RT-PCR was completed in 15 minutes.

Citation: Yamanaka, K. *et al.* Rapid detection for primary screening of influenza A virus: microfluidic RT-PCR chip and electrochemical DNA sensor. *Analyst* **136**, 2064–8 (2011).

Results

Experimental example: PrimeSTAR Max vs. other commercially available high-fidelity polymerases using a 10-second extension step

Human genomic DNA was used as template for fast PCR. Products 0.5 to 7.5 kb long were amplified (extension time, 10 sec) using PrimeSTAR Max enzyme or polymerases from three other manufacturers. High yield was observed when PrimeSTAR Max polymerase was used for products up to 4 kb in length.

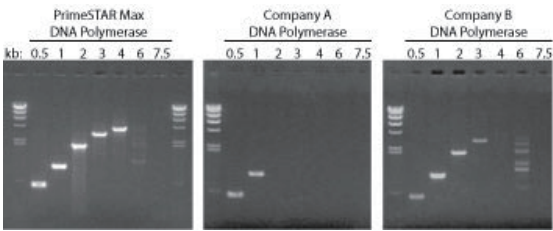


Figure 1. Fast PCR amplification of human genomic DNA using PrimeSTAR Max DNA Polymerase or high-fidelity polymerases provided by other manufacturers.

Compare extension-step recommendations

Is every high-fidelity polymerase capable of fast extension? No. Many high-fidelity polymerases on the market lack sufficient extension speed and are incompatible with fast cycling conditions. Refer to the table below for recommended extension step times for PrimeSTAR Max DNA Polymerase and three other commercially available high-fidelity enzymes.

Polymerase	Total extension step time per cycle for a 4-kb product
PrimeSTAR Max polymerase	10 sec minimum*
Company T polymerase	120 sec
Company N polymerase	120 sec
Company I polymerase	240 sec

*See data in Figure 1 for an example of amplification of a 4-kb product with a 10 sec extension step. Routine recommendations: when template quantity is 200 ng/50 μ l or less, an extension step of 5 sec/kb is recommended. When template quantity exceeds 200 ng/50 μ l, an extension step of 30–60 sec/kb is recommended.

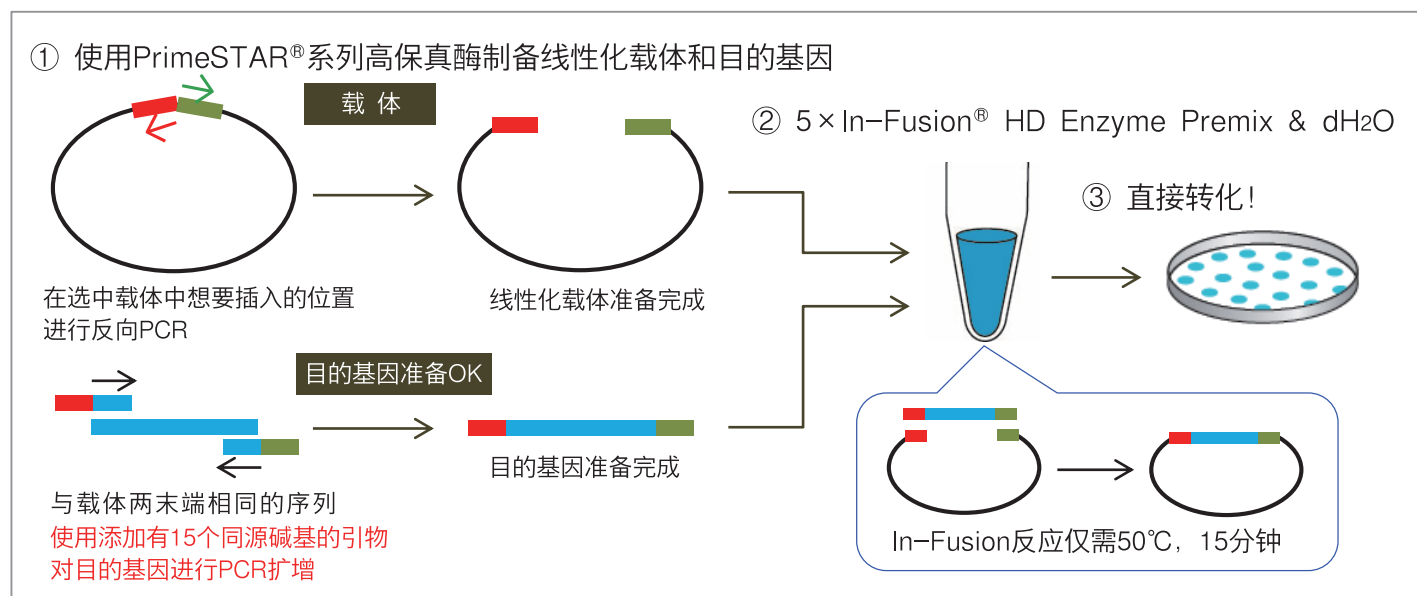
Conclusions

PrimeSTAR Max DNA Polymerase offers the highest fidelity and fastest extension speed of any commercially available polymerase. It was shown to provide superior yields for a series of amplification products up to 4 kb in length when compared to polymerases from other manufacturers.

PrimeSTAR Max DNA Polymerase also requires a far shorter extension time than other commercially available high-fidelity polymerases, making it a better choice for high-fidelity PCR performed under fast cycling conditions.

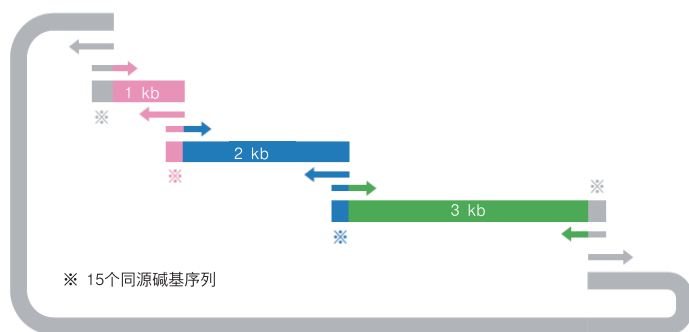
以上信息来源于Takara Bio USA, Inc.网站

■ 与In-Fusion®组合实现更快速的基因克隆



- ✓ 只要在载体和插入片段的末端有15 bp的相同序列，In-Fusion酶就可以将两者连接，可在任意载体的任意位置进行定向克隆。
 - ✓ 从短链到长链都可以有效克隆。
 - ✓ 可进行多个DNA片段一次性插入的多片段克隆。
- 与PrimeSTAR® 系列组合，使克隆更有效!**

实验例：多个DNA片段（1 kb, 2 kb, 3 kb）同时克隆



使用PrimeSTAR® Max分别扩增1 kb, 2 kb, 3 kb 3种插入片段与全长2.7 kb的载体，利用In-Fusion® HD Cloning Kit进行定向克隆。转化后随机挑取10个克隆，进行菌落PCR确认插入片段，确定有7个克隆是正确插入1 kb+2 kb+3 kb片段阳性克隆。

Insert size	1 kb+2 kb +3 kb
转化克隆数（1/5涂布）	192
正确转化的比例	7/10

■ 可用于下一代测序（NGS）

对于下一代测序（NGS）分析，PCR反应是非常重要的技术之一。Takara Bio配有适用于NGS的各种情况的PCR酶，PrimeSTAR® 系列是其中之一。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扩增等不同实验目的选择使用。

产品名称	文库扩增	长链 扩增子测序	高保真扩增 子测序	16S菌群分析	单细胞起始	
					DNA测序	RNA测序
TaKaRa Taq™ HS Low DNA	★	★	★	★★★	★	★
Tks Gflex™ DNA Polymerase Low DNA	★★	★★	★★	★★	★★★	★★
PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase	★★	★★★	★★	★★	★	★
PrimeSTAR® MaxDNA Polymerase	★★	★	★★★	★★	★	★
Tks Gflex™ DNA Polymerase	★★★	★★★	★★	★★	★★	★★

制品一览

■ PrimeSTAR®系列制品一览

产品名称	Code No.	包装量 (※)
PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase	R050A	50 μl反应 × 200 次
	R050B (A × 4)	50 μl反应 × 800 次
PrimeSTAR® GXL Premix	R051A	50 μl反应 × 200 次
	R051B (A × 4)	50 μl反应 × 800 次
PrimeSTAR® Max DNA Polymerase	R045A	50 μl反应 × 100 次
	R045B (A × 4)	50 μl反应 × 400 次
PrimeSTAR® HS DNA Polymerase	R010A	250 U
	R010B (A × 4)	1,000 U
PrimeSTAR® HS (Premix)	R040A	50 μl反应 × 100 次
PrimeSTAR® HS DNA Polymerase with GC Buffer	R044A	250 U
	R044B (A × 4)	1,000 U

※反应次数以50 μl反应体系的次数表示。

【关联制品】

产品名称	概要	Code No.	包装量
PrimeScript™ II High Fidelity RT-PCR Kit	PCR酶使用PrimeSTAR® GXL	R023A	50 次
		R023B	200 次
PrimeScript™ High Fidelity RT-PCR Kit	PCR酶使用PrimeSTAR® Max	R022A	50 次
		R022B	200 次
Mighty TA-cloning Reagent Set for PrimeSTAR®	平滑末端加A后进行TA克隆	6019	20 次
In-Fusion® HD Cloning Kit	In-Fusion克隆试剂，通过与PrimeSTAR 系列搭配使用，可正确且高成功率地进行克隆。	639648	10 次
In-Fusion® HD Cloning Kit w/Cloning Enhancer		639633	10 次
In-Fusion® HD Cloning Kit w/NucleoSpin®		639639	10 次
Tks Gflex™ DNA Polymerase	扩增成功率高的PCR酶，使用PrimeSTAR系列难以扩增时请尝试使用该酶！	R060A	250 U
		R060B	1,000 U
MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.3	对于阻害物质的耐性很高，推荐用于粗提样品	R076A	250 U
		R076B	1,000 U



产品名称	扩增效率	准确性	特异性	粗提耐性	扩增长度 (人基因组)	PCR产物 末端形状
Tks Gflex™ DNA Polymerase	★★★★★	★★★	★★★★★	★★★★	~ 30 kb	平滑末端
PrimeSTAR® Max DNA Polymerase	★★★	★★★★★	★★★	★	~ 6 kb	平滑末端
PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase	★★★★	★★★★	★★★★	★★★	~ 30 kb	平滑末端
MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.3	★★★★★	★	★★★	★★★★★	~ 2 kb	A突出

- 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。
- 本宣传页上记载的产品信息是2018年12月1日的信息，最新信息请参考公司官网。

Ver.1 2018年12月印刷 3K