

*TAKARA Taq*TM HS性能优势介绍

宝日医生物技术（北京）有限公司

背景

- *TaKaRa Taq*[™] 以及 *Taq* 家族 (*TaKaRa Ex Taq*[®] 、 *TaKaRa LA Taq*[®]) ， 是Takara历史悠久且热卖的基础型产品。
- *TaKaRa Taq*[™] Hot Start Version (Code No. R007) ， 以特异性好、性能稳定、通用性强、性价比高等优势，成为很多工业客户的理想选择。
- 市场上 *Taq* 酶供应商非常多，科研人员可能会认为 *Taq* 酶是很基础的产品，容易忽略性能差别，有些生产厂家没有合格的品质控制，导致产品质量参差不齐，而Takara在产品品质方面有着执着的坚持。
- 本次介绍 *TaKaRa Taq*[™] Hot Start Version 与其他品牌 *Taq* HS 相比的性能优势。

*TaKaRa Taq*TM HS 性能优势

1. RI法测定酶活——准确性高
2. 不同Lot批间差非常小——全过程的质量管理体系，稳定性高
3. 抗体对酶的封闭效率高——有效降低非特异性扩增
4. Hot Start PCR效果明显——作为IVD原料时更易操作，灵活性高

1. RI法测定酶活RI——准确性高

Takara公司的酶活测定方法：放射化学测定法（Radioactive Isotope, RI）

- *TaKaRa Taq* HS活性定义：用活性化的大马哈鱼精子DNA作为模板/引物，在74℃，30分钟内，摄入10 nmol的全核苷酸为酸性不溶物的活性定义为1 个活性单位（U）；
- *TaKaRa Taq* HS酶活测定方法：RI法，通过测定³H标记dTTP的摄入量计算活性。该方法准确性高，特异性强。

产品标签5 U/ μl的 <i>Taq</i> HS实测活性	
<i>TaKaRa Taq</i> HS	4.97
A公司	5.24
B公司	3.00
C公司	1.58
D公司	7.95
E公司	4.04
F公司	2.82
G公司	4.42
H公司	5.91
J公司	2.08
K公司	3.83

- 其他公司酶活测定方法：荧光修饰法、功能测定法等，都需要使用标准对照品，属于相对活性测定，准确度低。
- 表中数据显示，不同公司的*Taq* HS，标签均为5 U/ μl，但实测浓度偏高或偏低，每批产品的酶活性变化会很大。

➡ *TaKaRa Taq* HS的酶活，采用权威的放射性活性测定法，准确性更高，从源头上保证了产品活性的真实性、稳定性、一致性

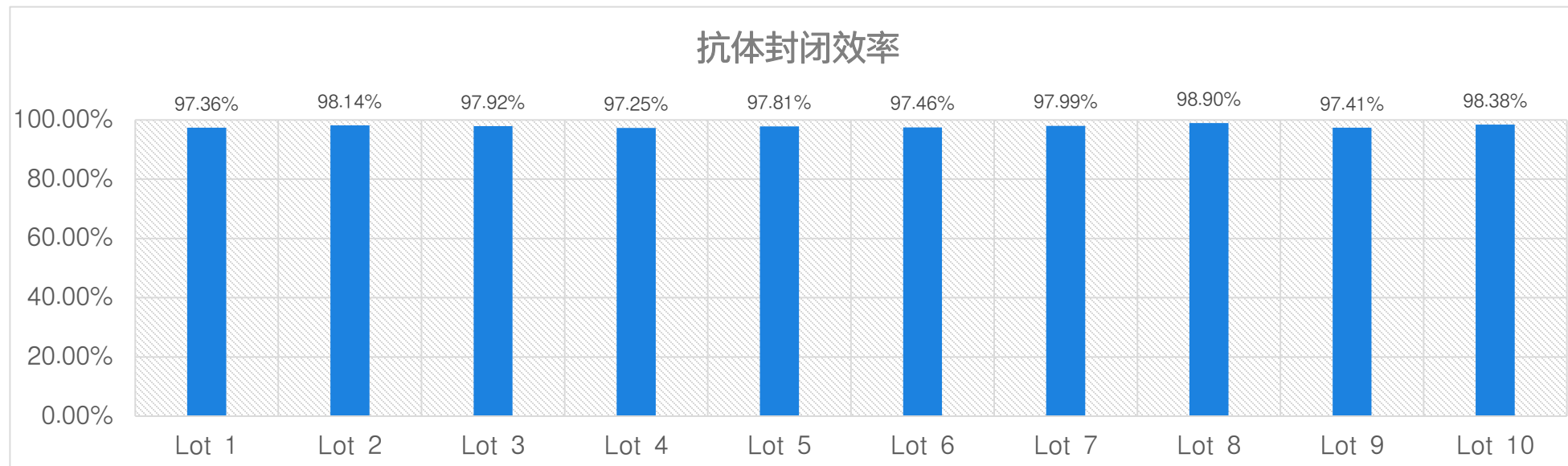
2. *TaKaRa Taq*TM HS 不同Lot批间差评价

评价内容

- 比较10个Lot 抗体封闭效率差异
- 比较10个Lot End Point PCR产物差异
- 比较10个Lot qPCR结果差异

★ 10个Lot为不同批次表达的蛋白质制造的 *TaKaRa Taq*TM HS ， 是真实的10 Lot。

2. *TaKaRa Taq*TM HS 不同Lot批间差评价—抗体封闭效率



	STD	CV
封闭效率	0.52%	0.53%

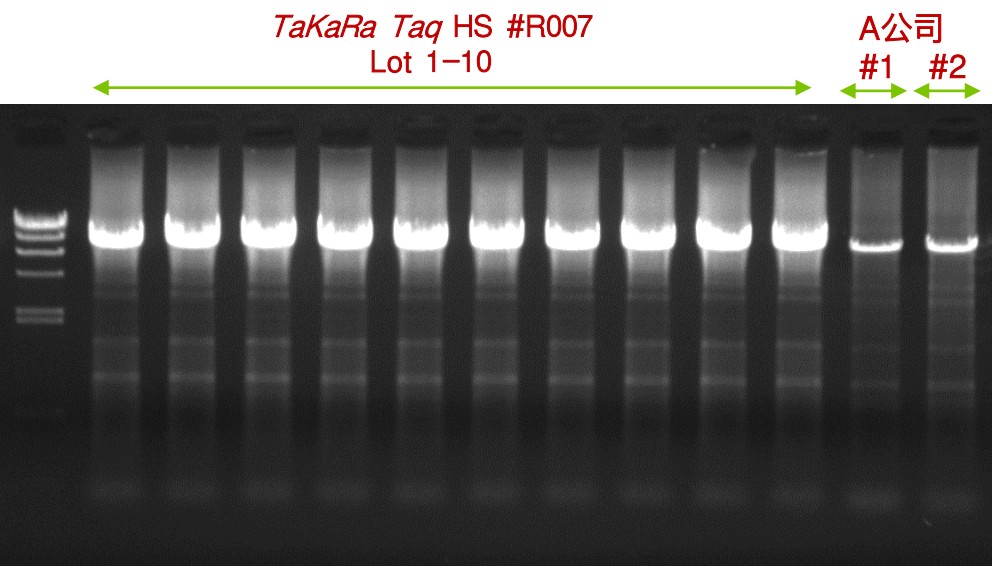
结果说明

- 每Lot的封闭效率均在97%以上，说明抗体对 *TaKaRa Taq*TM HS的封闭效果很好，可以有效减少非特异性扩增。
- 通常分子体外诊断Kit的CV要求是5%以内。*TaKaRa Taq*TM HS封闭效率的CV仅为0.53%，说明批间差非常小，稳定性高，可靠性高，更大程度降低了IVD Kit的研发、质控难度。

➡ 不同批次的 *TaKaRa Taq*TM HS，差异非常小，稳定性非常高。

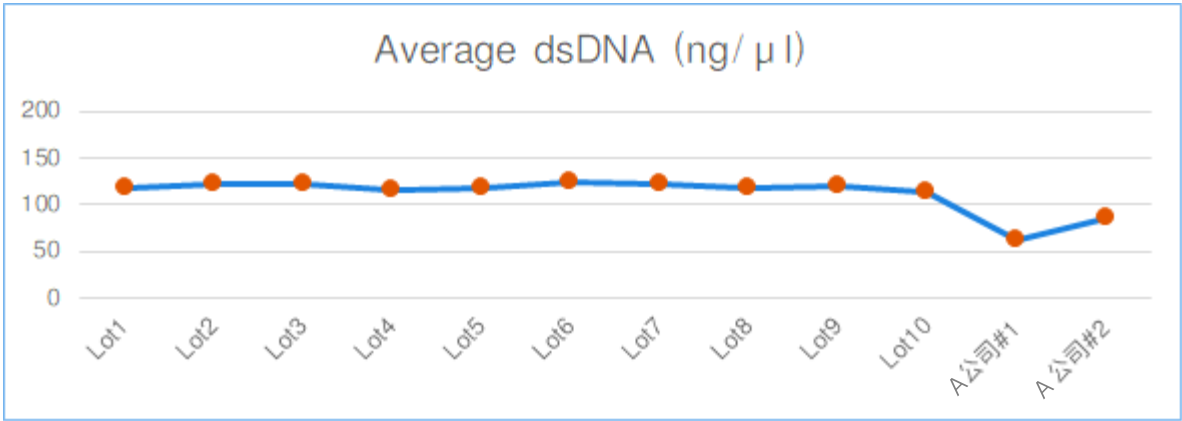
2. TaKaRa Taq™ HS 不同Lot批间差评价— End point PCR性能

★ 扩增8 kb片段的电泳结果



*A公司#1：酶添加量与10 Lot样品添加量相同
A公司#2：酶添加量是Takara Taq HS添加量的2倍（参考UM）

★ PicoGreen测定8 kb扩增产物量



Sample	10Lot 平均值	10Lot STD	10Lot CV	A公司 #1	A公司 #2
dsDNA产物量 (ng/ μl)	119.81	3.65	3.05%	62.99	85.96

* 以分子体外诊断产品为例，CV要求是5%以内

结果说明：进行End point PCR时，

- 使用TaKaRa Taq HS扩增8 kb产物，10 Lot电泳结果基本相当；PicoGreen定量PCR产物，Lot间CV值仅为3.05%，说明Lot差非常小。
- 电泳结果及PicoGreen定量结果均显示TaKaRa Taq HS 优于A公司产品。

2. TaKaRa Taq™ HS 不同Lot批间差评价— qPCR性能

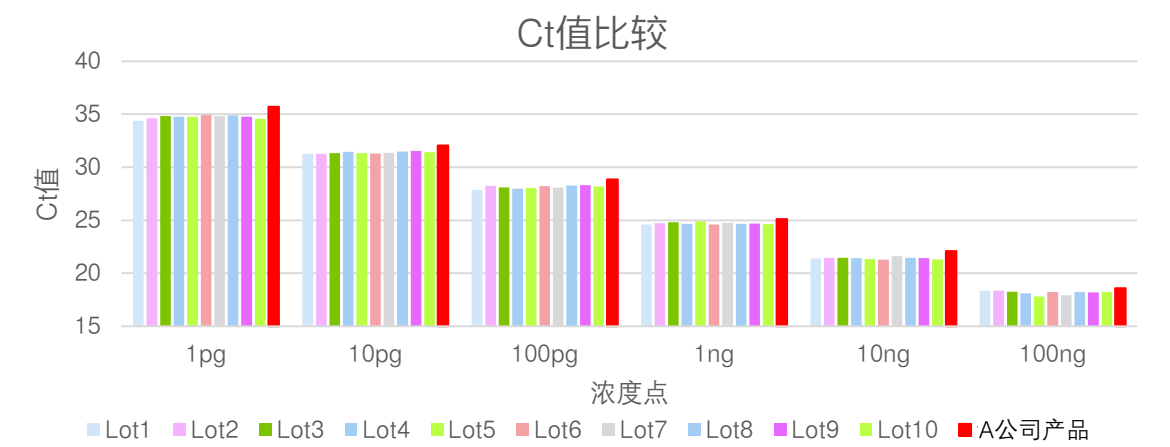
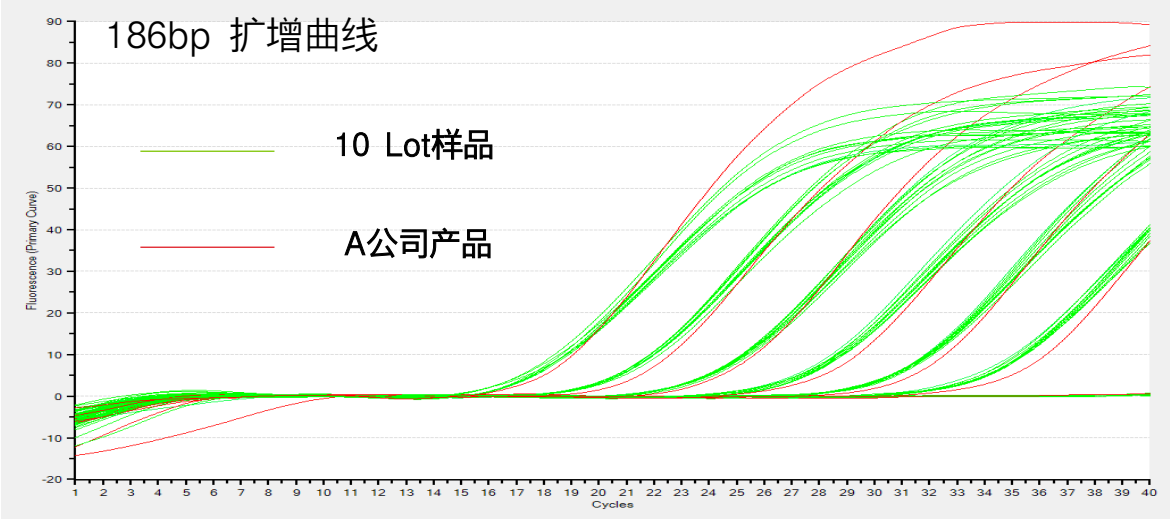
Sample	各浓度点Ct值						R ²	Eff (%)
	1pg	10pg	100pg	1ng	10ng	100ng		
Lot1	34.38	31.27	27.84	24.60	21.40	18.35	1	104.0
Lot2	34.62	31.27	28.24	24.71	21.44	18.34	1	102.3
Lot3	34.82	31.33	28.11	24.80	21.44	18.26	1	100.6
Lot4	34.76	31.44	27.98	24.64	21.43	18.10	1	99.5
Lot5	34.78	31.33	28.03	24.90	21.32	17.81	1	98.0
Lot6	34.91	31.31	28.21	24.58	21.27	18.22	0.999	99.0
Lot7	34.83	31.37	28.06	24.74	21.62	17.92	1	99.0
Lot8	34.88	31.47	28.28	24.64	21.45	18.23	1	99.2
Lot9	34.77	31.54	28.31	24.69	21.43	18.18	1	99.2
Lot10	34.56	31.43	28.18	24.62	21.30	18.21	1	100.7
10Lot(Ct值)平均值	34.73	31.38	28.12	24.69	21.41	18.16	NA	NA
10Lot(Ct值) STD	0.16	0.09	0.15	0.1	0.1	0.17	NA	NA
10Lot(Ct值) CV	0.46%	0.29%	0.53%	0.40%	0.47%	0.94%	NA	NA

Sample	各浓度点Ct值						R ²	Eff (%)
	1pg	10pg	100pg	1ng	10ng	100ng		
10Lot(Ct值)平均值	34.73	31.38	28.12	24.69	21.41	18.16	NA	NA
A公司产品	35.69	32.04	28.84	25.11	22.08	18.6	0.999	96.8
10Lot均值与A公司Ct值差值	-0.96	-0.66	-0.72	-0.42	-0.67	-0.44	NA	NA

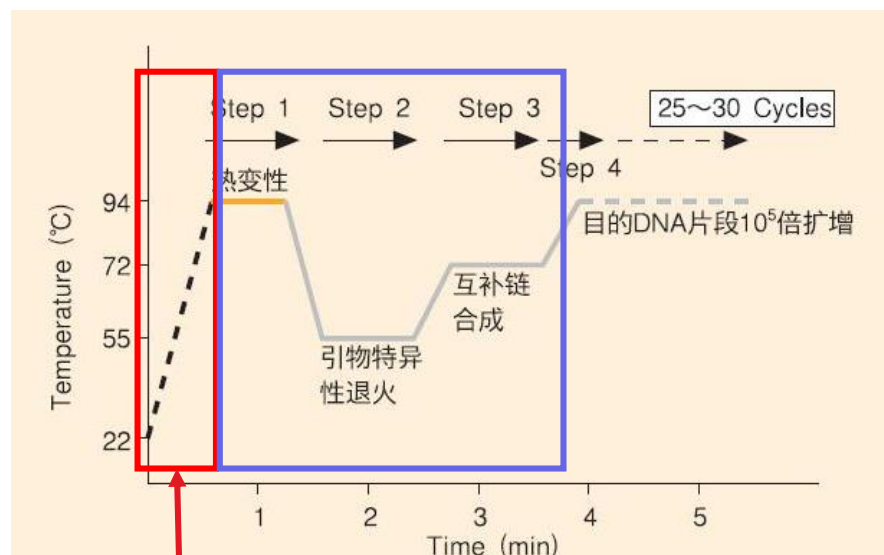
* 以分子体外诊断产品为例，CV要求是5%以内

结果说明：进行qPCR时，

- 不同浓度梯度下，TaKaRa Taq HS 10 Lot间Ct值的变异系数CV非常小，0.3%–0.9%之间，说明Lot差非常小，更大程度保证了IVD产品的CV值要求，为诊断企业研发、生产稳定的IVD产品提供了保障。
- TaKaRa Taq HS 的Ct值明显小于A公司产品，性能更优。



3. 抗体对 *Taq* 酶的封闭效果—Hot Start PCR的原理



Hot Start PCR法是**提高PCR特异性**的重要方法之一。

master mix的配置阶段，PCR第一个循环前的升温阶段，容易产生引物二聚体 or 引物模板的错配。使用抗体修饰的PCR酶可以有效降低非特异扩增。

- 如果PCR酶没有和抗体结合，PCR酶的聚合酶活性会导致**错配被扩增**，也就是非特异性扩增，并且这个错误的PCR产物在后续PCR循环中会被**不断放大**。
- 如果PCR酶和抗体结合，PCR循环前，抗体抑制了聚合酶的活性，该阶段的错配不会被扩增。后续PCR循环时，抗体变性，聚合酶活性恢复，错配被打开，就不会产生大量错误的PCR产物。从而**降低了非特异性扩增**，**提高目的DNA片段的扩增效率**，**降低了假阳性出现的概率**。

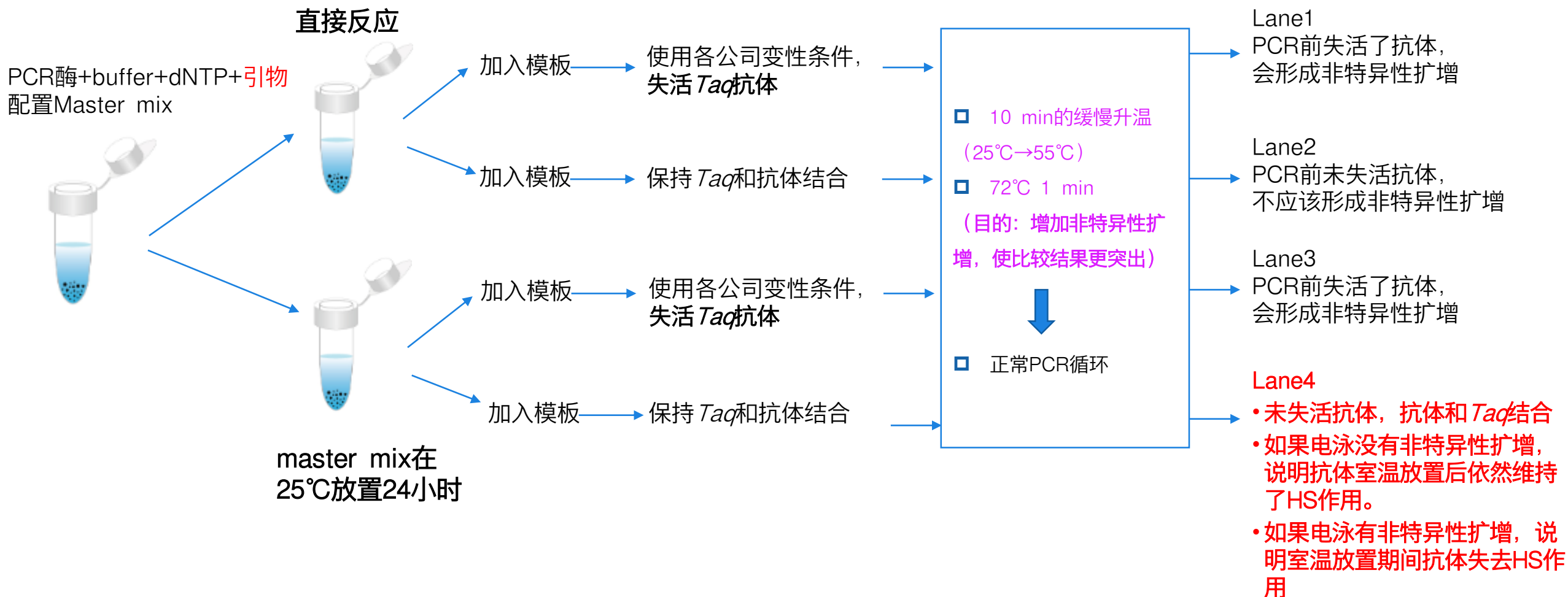
3. 抗体对 *Taq* 酶的封闭效果

公司&产品	抗体变性后 <i>Taq</i> 恢复活性 (U/ μ l)	抗体对 <i>Taq</i> 酶的 封闭效率
<i>TaKaRa Taq</i> HS	4.97	99.53%
A公司	5.24	97.09%
B公司	3.00	94.44%
C公司	1.58	91.68%
D公司	7.95	97.04%
E公司	4.04	97.15%
F公司	2.82	97.79%
G公司	4.42	99.40%
H公司	5.91	87.21%
J公司	2.08	59.36%
K公司	3.83	99.88%

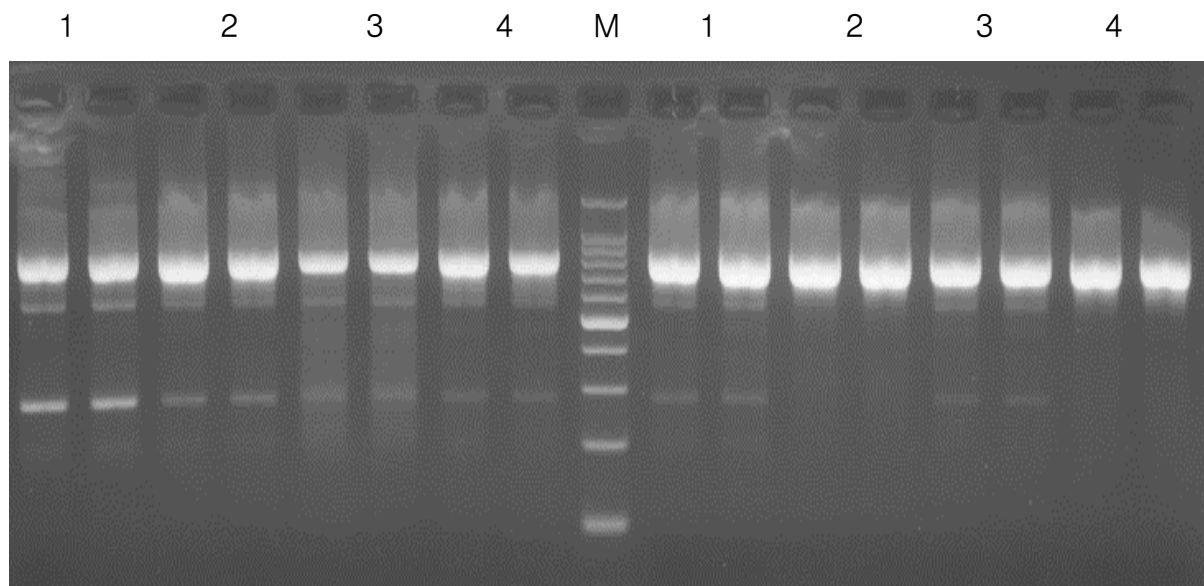
结果说明

- 各品牌酶浓度均表示为5 U/ μ l，但实测浓度相差很大。
- *TaKaRa Taq* HS，酶的活性定量准确，抗体封闭效率优良。
- B公司、C公司的封闭效率偏低，H公司、J公司的封闭效率非常低→产生非特异性扩增的可能性更高，影响目的产物的扩增。
- 部分公司酶的实测活性偏低或过高，说明酶活测定结果不准确，批间差大。

4. *Taq* HS的Hot Start效果验证—评价方法



4. *Taq* HS的Hot Start效果验证—结果展示



TaKaRa Taq[™]
Code No. R001

TaKaRa Taq[™] Hot Start Version
Code No. R007

评价方法

Lane1: PCR之前失活了抗体，会形成非特异性扩增

Lane2: PCR之前未失活抗体，不应该形成非特异性扩增

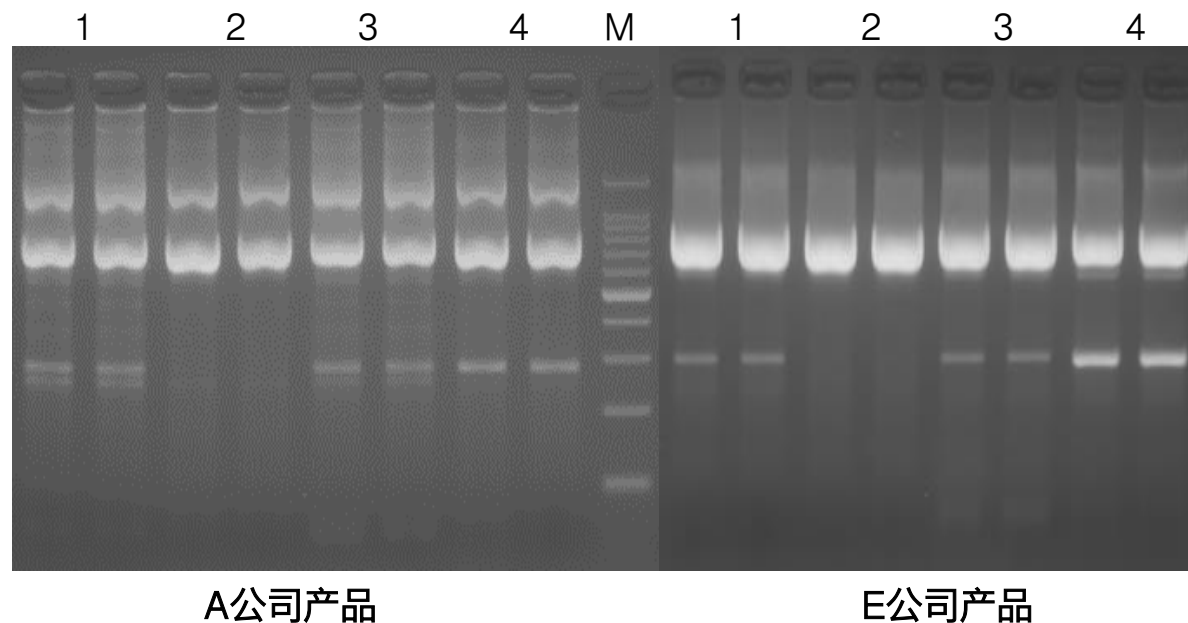
Lane3: 室温放置24h，PCR之前失活了抗体，会形成非特异性扩增

Lane4: 室温放置24h，PCR之前未失活抗体

- 如果电泳没有非特异性扩增，说明抗体室温放置后依然保持了HS作用
- 如果电泳有非特异性扩增，说明室温放置期间抗体失去HS作用

- R001的全部结果都存在非特异性扩增，说明使用非HS型 *Taq* 酶时，非特异性扩增产生概率高于HS型PCR酶
- R007第1泳道的非特异性条带，在第2泳道时没有出现，说明R007的抗体，可以有效降低非特异性扩增
- R007第4泳道，没有出现非特异性扩增，说明master mix室温放置24hr，抗体依然保持了HS作用，操作较慢或样本较多时，抗体依然保持了活性，对于IVD Kit研发，这是非常重要的优势。

4. *Taq* HS的Hot Start效果验证—结果展示



评价方法

Lane1: PCR之前失活了抗体，会形成非特异性扩增

Lane2: PCR之前未失活抗体，不应该形成非特异性扩增

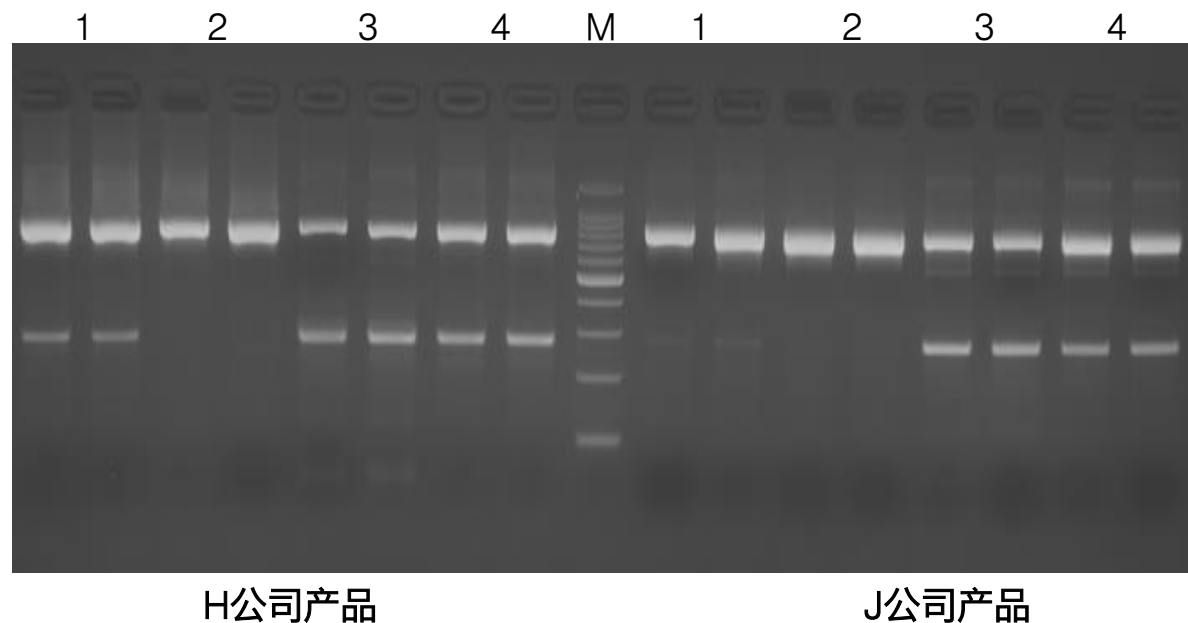
Lane3: 室温放置24h，PCR之前失活了抗体，会形成非特异性扩增

Lane4: 室温放置24h，PCR之前未失活抗体

- 如果电泳没有非特异性扩增，说明抗体室温放置后依然保持了HS作用
- 如果电泳有非特异性扩增，说明室温放置期间抗体失去HS作用

- A公司和E公司的 *Taq* HS产品，第1泳道的非特异性条带，在第2泳道中没有出现，说明 *Taq* 抗体可以降低非特异性扩增
- 第4泳道，出现了非特异性扩增，说明master mix室温放置24hr，抗体失去了HS作用。如果该产品作为病毒检测Kit或体外诊断产品原料，稳定性无法保证，检测结果可能会出现假阳性。

4. *Taq* HS的Hot Start效果验证—结果展示



评价方法

Lane1: PCR之前失活了抗体，会形成非特异性扩增

Lane2: PCR之前未失活抗体，不应该形成非特异性扩增

Lane3: 室温放置24h，PCR之前失活了抗体，会形成非特异性扩增

Lane4: 室温放置24h，PCR之前未失活抗体

- 如果电泳没有非特异性扩增，说明抗体室温放置后依然保持了HS作用
- 如果电泳有非特异性扩增，说明室温放置期间抗体失去HS作用

公司&产品	抗体变性后 <i>Taq</i> 恢复活性 (U/μl)	抗体对 <i>Taq</i> 酶的封闭效率
H公司	5.91	87.21%
J公司	2.08	59.36%

- H公司 & J公司的 *Taq* HS产品，第1泳道的非特异性条带，在第2泳道时没有出现，可能是 *Taq* 抗体可以降低非特异性扩增。结合活性测定结果，H公司 & J公司的封闭效率较低。虽然第二泳道没有非特异性扩增，可能是扩增能力较弱导致，因为目的条带亮度也比较弱，而不是抗体封闭提高了特异性。
- 第4泳道，出现了非特异性扩增，说明master mix室温放置24hr，抗体失去了HS作用。如果该产品作为病毒检测Kit或体外诊断产品原料，稳定性无法保证，检测结果不准确。
- 第3泳道和第4泳道，目的产物量少于前2泳道，说明非特异性扩增的产生，会影响目的产物的生成。

TaKaRa Taq™ HS vs 其他品牌产品

公司	抗体封闭效率 (%)	5 U/ μl产品的 实测活性 (U/ μl)	Master Mix立即反应 HS效果	Master Mix放置24h后反应 HS效果
TaKaRa Taq HS #R007	99.53	4.97	Passed	Passed
A公司	97.09	5.24	Passed	Failed
B公司	94.44	3.00	Passed	Passed
C公司	91.68	1.58	Passed	Passed
D公司	97.04	7.95	Passed	Failed
E公司	97.15	4.04	Passed	Passed
F公司	97.79	2.82	Passed	Passed
G公司	99.4	4.42	Passed	Passed
H公司	87.21	5.91	Passed	Failed
J公司	59.36	2.08	Passed	Failed
K公司	99.88	3.83	Passed	Passed
结果说明	封闭效率低，产生非特异性扩增的可能性更高，会影响目的产物的扩增。	- Takara使用权威的RI法测定酶活，更准确，Lot差非常小，稳定性高。 - 其他公司实测活性过高或过低，可能由于测定方法不准确导致，会导致lot差较大。	各品牌HS均有提高特异性的效果。	- 抗体室温放置24h后失活了，失去HS效果。 - 如果配置操作在室温时间较长，非特异性扩增出现的概率会增加。

*TaKaRa Taq*TM HS 性能优势

1. RI法测定酶活——准确性高
2. 不同Lot批间差非常小——全过程的质量管理体系，稳定性高
3. 抗体对酶的封闭效率高——有效降低非特异性扩增
4. Hot Start PCR效果明显——作为IVD原料时更易操作，灵活性高

我们在这里……

电话

400-6518-761; 400-6518-769

邮箱

service@takarabiomed.com.cn

网址

www.takarabiomed.com.cn

微信

微信公众号“宝日医”

微博

官方微博“Takara中国”



Takara官网



Takara微信



Takara微博

声明：除特殊标注外，本PPT所涉图片及实验数据均引用自Takara Bio Inc., Takara Biomedical Tech. Co., Ltd.

that's
GOOD
science!®