

TaKaRa LA Taq™ with GC Buffer

Code No. RR02AG
Size : 125 units

Shipping at - 20°C
Store at - 20°C

Components : **TaKaRa LA Taq™** 125 units
2×GC Buffer I (5 mM Mg²⁺plus) 1.25 ml
2×GC Buffer II (5 mM Mg²⁺plus) 1.25 ml
dNTP Mixture (2.5 mM each) 400 μl

Lot No.
Conc. : units/μl
Volume : μl
Expiration Date :

Storage Buffer: 20 mM Tris-HCl (pH8.0)
100 mM KCl
0.1 mM EDTA
1 mM DTT
0.5% Tween 20
0.5% NP-40
50% Glycerol

Unit definition: One unit is the amount of enzyme that will incorporate 10 nmol of dNTP into acid-insoluble products in 30 minutes at 74°C with activated salmon sperm DNA as the template-primer.

Reaction mixture for unit definition:

25 mM TAPS (pH 9.3 at 25°C)
50 mM KCl
2 mM MgCl₂
0.1 mM DTT
200 μM each dATP·dGTP·dCTP
100 μM [3H]-dTTP
0.25 mg/ml activated salmon sperm DNA

Purity : Nicking, endonuclease and exonuclease activity were not detected after the incubation of 0.6 μg of supercoiled pBR322 DNA, 0.6 μg of λ DNA or 0.6 μg of λ-Hind III digest with 10 units of this enzyme for 1 hour at 74°C.

PCR products : As most PCR products amplified with *TaKaRa LA Taq™* have one A added at 3'-termini, the obtained PCR product can be directly used for cloning into T-Vector. But in the case of cloning the long length product (>5 kb) into T-Vector, the cloning efficiency becomes quite low. Also it is possible to clone the product in blunt-end vectors after blunting and phosphorylation of the end.

Applications:

For DNA amplification by Polymerase Chain Reaction (PCR). Specifically, for the amplification of targets with high GC content or repeated sequences.

PCR test :

1. Good performance of DNA amplification of a β-globin gene (17.5 kb) by PCR was confirmed by using human genome DNA as the template with GC Buffer I.
2. Good performance of DNA amplification of a *c-jun* proto oncogene (1,255 bp, GC Contents 65%) by PCR was confirmed by using human genome DNA as the template with GC Buffer I, II.

General reaction mixture for PCR (total 50 μl) :

TaKaRa LA Taq™ (5 units/μl) 0.5 μl
2×GC Buffer I or II * 25 μl
dNTP Mixture (2.5 mM each) 8 μl
Template < 1 μg
Primer 1 final conc. 0.2 - 1 μM
Primer 2 final conc. 0.2 - 1 μM
Sterilized distilled water up to 50 μl

* : This product is supplied with two reaction buffers. At first, 2×GC Buffer I should be used. When DNA amplification can not be confirmed, the result may be improved by using 2×GC Buffer II.

PCR condition :

When amplifying 1,255 bp of human genome (total GC content: 65%)

94°C, 1 min	} 30 cycles
94°C, 30 sec	
60°C, 30 sec	
72°C, 2 min	
72°C, 5 min	

< Cool Start Method >

"Cool Start Method" + provides more accurate amplification and minimizes amplification of nonspecific bands. This is a simple method that does not require specialized enzymes or additional reagents.

1) Keep all reagents on ice until use.

2) Prepare the reaction mixture on ice.*1,*2

* 1 : Order of reagent addition does not influence results.

* 2 : Results will not be affected by leaving the mixture on ice for 30 min. before thermal cycling.

3) Set a thermal cycler with the designated program.*3

* 3 : PCR conditions dose not need to be changed for Cool Start.

4) Set the tubes in a thermal cycler and start thermal cycling immediately.

+ : JAPAN Patent 2576741 for Cool Start Method is owned by SHIMADZU CORPORATION

NOTICE TO PURCHASER: LIMITED LICENSE

[P1] PCR Notice

Use of this product is covered by one or more of the following US patents and corresponding patent claims outside the US: 5,079,352, 5,789,224, 5,618,711, 6,127,155 and claims outside the US corresponding to US Patent No. 4,889,818. The purchase of this product includes a limited, non-transferable immunity from suit under the foregoing patent claims for using only this amount of product for the purchaser's own internal research. No right under any other patent claim (such as the patented 5' Nuclease Process claims in US Patents Nos. 5,210,015 and 5,487,972), no right to perform any patented method, and no right to perform commercial services of any kind, including without limitation reporting the results of purchaser's activities for a fee or other commercial consideration, is conveyed expressly, by implication, or by estoppel. This product is for research use only. Diagnostic uses under Roche patents require a separate license from Roche. Further information on purchasing licenses may be obtained by contacting the Director of Licensing, Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, USA.

[M57] LA Technology

This product is covered by the claims 6-16 of U.S. Patent No. 5,436,149 and its foreign counterpart patent claims.

Note

This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc. Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from TAKARA BIO INC. If you require licenses for other use, please contact us by phone at +81 77 543 7247 or from our website at www.takara-bio.com.

TaKaRa LA Taq® with GC Buffer

Code No. RR02AG
Size : 125 units

Shipping at - 20°C
Store at - 20°C

Lot No. (英文面をご覧ください。)
濃度: (英文面をご覧ください。)
容量: (英文面をご覧ください。)
品質保証期限: (英文面をご覧ください。)

●内容
TaKaRa LA Taq® (5 units/μl) 25 μl
2×GC Buffer I (5 mM Mg²⁺plus) 1.25 ml
2×GC Buffer II (5 mM Mg²⁺plus) 1.25 ml
dNTP Mixture (各 2.5 mM) 400 μl

●形状
20 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH8.0)
100 mM KCl
0.1 mM EDTA
1 mM DTT
0.5% Tween 20
0.5% NP-40
50% Glycerol

●活性の定義
活性化サケ精子 DNA を鋳型/プライマーとして用い、下記の活性測定用反応液中にて 74°C において、30 分間に 10 nmol の全ヌクレオチドを酸不溶性沈殿物に取り込む活性を 1 U とする。

●活性測定用反応液組成
25 mM TAPS 緩衝液 (pH9.3, 25°C)
50 mM KCl
2 mM MgCl₂
0.1 mM DTT
各 200 μM dATP·dGTP·dCTP
100 μM [³H]-dTTP
0.25 mg/ml 活性化サケ精子 DNA

●純度
1. 10 U の本酵素と 0.6 μg の λ-Hind III 分解物を 74°C、1 時間反応させても DNA の電気泳動パターンに変化は起こらない。
2. 10 U の本酵素と 0.6 μg の supercoiled pBR322 DNA を 74°C 1 時間反応させても DNA の電気泳動パターンに変化は起こらない。
3. 10 U の本酵素と 0.6 μg の λDNA を 74°C、1 時間反応させても DNA の電気泳動パターンに変化は起こらない。

●用途
Polymerase Chain Reaction (PCR) 法による DNA 増幅。特に GC リッチな領域やリピート配列を含む領域の増幅に推奨。

●PCR 検定

1. ヒトゲノム DNA を鋳型とした PCR 反応 (β-グロビン遺伝子 17.5 kb) において良好な増幅が見られることを確認している。(GC Buffer I のみ)
2. ヒトゲノム DNA を鋳型とした PCR 反応 (c-jun proto oncogene 1,255 bp, GC 含量 65%) において良好な増幅が見られることを確認している。(GC Buffer I, II)

●PCR 産物について

TaKaRa LA Taq® を用いて増幅した PCR 産物のほとんどは、3' 末端に A が 1 塩基付加されている。したがって、その PCR 産物をそのまま T-Vector にクローニングすることが可能である。ただし、長鎖の PCR 産物 (5 kb 以上) の T-Vector へのクローニングは効率がかかなり悪くなる。また、末端平滑化およびリン酸化を行って、平滑末端のベクターにクローニングすることも可能である。

●一般的な PCR 反応液組成 (total 50 μl)

TaKaRa LA Taq® (5 units/μl)	0.5 μl
2 × GC Buffer I or II *	25 μl
dNTP Mixture (2.5 mM each)	8 μl
Template	< 1 μg
Primer 1	0.2 ~ 1 μM (final conc.)
Primer 2	0.2 ~ 1 μM (final conc.)
滅菌蒸留水	up to 50 μl

* : 本製品には 2 種類の反応バッファーを添付しています。まず 2×GC Buffer I をお試しください。Buffer I で増幅できない場合には、Buffer II をお試しください。改善される場合があります。

●PCR 条件 (例)

ヒトゲノム DNA を鋳型として、1,255 bp (GC 含量 65%) を増幅する時
94°C, 1 min
94°C, 30 sec
60°C, 30 sec
72°C, 2 min
72°C, 5 min
} 30 cycles

◆Cool Start 法◆

下記の Cool Start 法※により簡便に PCR 時の非特異的増幅を抑えることができる。

【プロトコール】

- 1) 試薬をすべて氷上に置く。
- 2) 試薬分注後の反応チューブは、ただちに氷上に置く。
(チューブに加える試薬の順番は問題にならない。調製後 30 分たってから反応しても問題はない。)
- 3) サーマルサイクラーをスタートするだけの状態にしておく。(設定は既存のプログラムで OK。)
- 4) 反応チューブをサーマルサイクラーにセットし、ただちにスタートする。
※ : 本方法は、(株)島津製作所の特許 (2576741) です。

●注意

本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。

v201102Da