

TaKaRa LA Taq[®] with GC Buffer

Code No. RR02AG Size: 125 U
 Conc.: 5 U/ μ l

Supplied Reagents:

2X GC Buffer I (5 mM Mg²⁺ plus) 1.25 ml
2X GC Buffer II (5 mM Mg²⁺ plus) 1.25 ml
dNTP Mixture (2.5 mM each) 400 μ l

Storage Buffer :

20 mM Tris-HCl, pH 8.0
100 mM KCl
0.1 mM EDTA
1 mM DTT
0.5% Tween 20
0.5% Nonidet P-40
50% Glycerol

Storage: -20°C

Unit definition :

One unit is the amount of enzyme that will incorporate 10 nmol of dNTPs 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 μ M ea. dATP·dGTP·dCTP
100 μ M [³H]-dTTP
0.25 mg/ml activated salmon sperm DNA

Purity :

Nicking activity was not detected after the incubation of 1 μ g of supercoiled pBR322 DNA with 25 units of this enzyme for 1 hour at 74°C.

Endonuclease and exonuclease activity were not detected after the incubation of 1 μ g of λ DNA or λ -Hind III digest with 25 units of this enzyme for 16 hours at 74°C.

PCR products :

As most PCR products amplified with *TaKaRa LA Taq* have one A at the 3'-termini, the obtained PCR products can be directly cloned into T-vectors. But when cloning long products (> 5 kb) into T-vectors, the cloning efficiency decreases. Also it is possible to clone the product in blunt-end vectors after blunting and phosphorylation of the end.

Applications :

For DNA amplification by PCR. Specifically, for amplification of targets with high GC-content or that contain repetitive sequences.

Quality Control Data :

Please see the Certificate of Analysis (CoA) for each lot. You can download the CoA on Takara Bio website.

General reaction mixture for PCR (50 μ l reaction volume) :

| | |
|--------------------------------------|-----------------------------|
| <i>TaKaRa LA Taq</i> (5 U / μ l) | 0.5 μ l |
| 2X GC Buffer I or II * | 25 μ l |
| dNTP Mixture (2.5 mM each) | 8 μ l |
| Template | < 1 μ g |
| Primer 1 | final conc. 0.2 - 1 μ M |
| Primer 2 | final conc. 0.2 - 1 μ M |
| Sterile purified water | up to 50 μ l |

* This product is supplied with two reaction buffers. First, use 2X GC Buffer I. If DNA amplification is not obtained, amplification may be improved by using 2X GC Buffer II.

PCR conditions :

Amplification of a 1,255 bp region from human genomic DNA (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 >

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

Cool Start Method Protocol

- 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 do not need to be changed for Cool Start.
- 4) Set the tubes in a thermal cycler and start thermal cycling immediately.

TaKaRa LA Taq is a registered trademark of Takara Bio Inc.

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 77 565 6973 or from our website at www.takara-bio.com.

Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements.

All trademarks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

TaKaRa LA Taq[®] with GC Buffer

Code No. RR02AG 容量： 125 U
 濃度： 5 U/ μ l

添付試薬：

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 μ l

●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% Nonidet P-40
50% Glycerol

●保存 - 20°C

●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 μ M dATP·dGTP·dCTP
100 μ M [³H]-dTTP
0.25 mg/ml 活性化サケ精子 DNA

●純度

- 25 U の本酵素と 1 μ g の λ -Hind III 分解物を 74°C、16 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。
- 25 U の本酵素と 1 μ g 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。
- 25 U の本酵素と 1 μ g の λ DNA を 74°C、16 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

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。

●品質管理データ

性能試験結果については、各ロットの Certificate of Analysis (CoA) をご覧ください。CoA はタカラバイオウェブサイトのドキュメントセンターからダウンロードできます。

●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 μ l)

| | |
|------------------------------|-------------------------------|
| TaKaRa LA Taq (5 U/ μ l) | 0.5 μ l |
| 2 × GC Buffer I or II * | 25 μ l |
| dNTP Mixture (2.5 mM each) | 8 μ l |
| Template | < 1 μ g |
| Primer 1 | 0.2 ~ 1 μ M (final conc.) |
| Primer 2 | 0.2 ~ 1 μ M (final conc.) |
| 滅菌精製水 | up to 50 μ l |

* : 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. | } 30 cycles |
| ↓ | | |
| 94°C | 30 sec. | |
| 60°C | 30 sec. | |
| 72°C | 2 min. | |
| ↓ | | |
| 72°C | 5 min. | |

◆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。

●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。
ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
本データシートに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。