

# TaKaRa LA Taq® Hot Start Version

**Code No. RR042A**      **Size:**            **125 U**  
                                 **Conc.:**            **5 U/μl**

## Supplied Reagents:

**10X LA PCR Buffer II (Mg<sup>2+</sup> plus) (25 mM)**    **1 ml**  
**dNTP Mixture (2.5 mM each)**                    **400 μl**

## Description:

*TaKaRa LA Taq* HS is designed for hot start PCR; it includes a neutralizing monoclonal antibody that recognizes *LA Taq* DNA polymerase. This antibody inhibits polymerase activity by binding to *LA Taq*, thereby preventing nonspecific amplification due to mispriming and/or formation of primer dimers during reaction set-up before thermal cycling. Antibody-mediated repression is released during the initial DNA denaturation step of PCR. This enzyme can be used with standard PCR conditions.

## 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%	NP-40
50%	Glycerol

**Storage:**            -20°C

## dNTP Mixture:

dNTP Mixture is ready for use in PCR without dilution.

Concentration	: 2.5 mM of each dNTP
Form	: Dissolved in water (sodium salts), pH 7 - 9
Purity	: ≥ 98% for each dNTP

## 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	MgCl <sub>2</sub>
0.1 mM	DTT
200 μM	each dATP·dGTP·dCTP
100 μM	[ <sup>3</sup> H]-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.

## Application:

For DNA amplification by hot start PCR. Specifically, for amplifying fragments > 15 kb.

## PCR products:

As most PCR products amplified with *TaKaRa LA Taq* HS have one A at the 3'-termini, the obtained PCR products can be directly cloned into T-vectors. When cloning long products (> 5 kb) into T-vectors, the cloning efficiency may be very low. It is also possible to clone the product in blunt-end vectors after blunting and phosphorylation of the ends.

## 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 μl reaction volume):

<i>TaKaRa LA Taq</i> HS (5 U/μl)	0.5 μl
10X LA PCR Buffer II (Mg <sup>2+</sup> plus)	5 μl
dNTP Mixture (2.5 mM each)	8 μl
Template	< 1 μg
Primer 1	0.2 - 1.0 μM (final conc.)
Primer 2	0.2 - 1.0 μM (final conc.)
Sterile purified water	up to 50 μl

## PCR conditions:

This enzyme can be used with standard PCR conditions, since the monoclonal antibody is denatured in the initial DNA-denaturation step. There is no need for an additional step to denature the anti-*LA Taq* antibody.

Example: Amplification of a 17.5 kb DNA fragment

94°C	1 min	} 30 cycles
↓		
98°C	10 sec	
68°C	15 min	}
↓		
72°C	10 min	

(Note) Denaturation conditions vary depending on the thermal cycler and tubes used for PCR. Denaturation for 5 - 10 sec at 98°C, or 20 - 30 sec at 94°C is recommended.

*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 6972 or from our website at [www.takara-bio.com](http://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<sup>®</sup> Hot Start Version

Code No. RR042A      容量：      125 U  
濃度：      5 U/ $\mu$ l

## 添付試薬：

10×LA PCR Buffer II (Mg<sup>2+</sup> plus) (25 mM)    1 ml  
dNTP Mixture (各 2.5 mM)      400  $\mu$ l

## ●製品説明

TaKaRa LA Taq HS は、抗 Taq 抗体と TaKaRa LA Taq を混合したもので、Hot Start PCR に用いる酵素である。高温に加熱するまでは抗 Taq 抗体が酵素に結合し、ポリメラーゼ活性を抑えているため、サイクル前のミスプライミングやプライマーダイマーに由来する非特異的増幅を防ぐことができる。

抗 Taq 抗体は、PCR の最初の DNA 変性ステップで変性するため、特別な変性ステップは必要なく、従来の PCR 条件で使用できる。

## ●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

●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	MgCl <sub>2</sub>
0.1 mM	DTT
各 200 $\mu$ M	dATP·dGTP·dCTP
100 $\mu$ M	[ <sup>3</sup> H]-dTTP
0.25 mg/ml	活性化サケ精子 DNA

## ●純度

- 10 U の本酵素と 0.6  $\mu$ g の  $\lambda$ -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。
- 10 U の本酵素と 0.6  $\mu$ 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。
- 10 U の本酵素と 0.6  $\mu$ g の  $\lambda$ 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。

## ●用途

Hot Start PCR 法による DNA 増幅。特に 15 kb 以上の長鎖 DNA の増幅に効果的。

## ●PCR 産物について

TaKaRa LA Taq HS 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。なお、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。

## ●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。

## dNTP Mixture (各 2.5 mM)

dATP、dCTP、dGTP、dTTP の等モル混合物で、希釈せずにそのまま PCR 反応に用いることができる。

- ・形状      水溶液 (ナトリウム塩)、pH7 ~ 9
- ・純度      各 98% 以上

## ●一般的な PCR 反応液組成 (total 50 $\mu$ l)

TaKaRa LA Taq HS (5 U/ $\mu$ l)	0.5 $\mu$ l
10×LA PCR Buffer II (Mg <sup>2+</sup> plus)	5 $\mu$ l
dNTP Mixture (2.5 mM each)	8 $\mu$ l
Template	< 1 $\mu$ g
Primer 1	0.2 ~ 1.0 $\mu$ M (final conc.)
Primer 2	0.2 ~ 1.0 $\mu$ M (final conc.)
滅菌精製水	up to 50 $\mu$ l

## ●PCR 条件

PCR の最初の DNA 変性ステップで抗 Taq 抗体は失活するので、従来の PCR 条件が使用できる。抗 Taq 抗体を失活させるための特別なステップは必要ない。

(例) 17.5 kb DNA を増幅する時

94°C	1 min.	} 30 cycles
↓		
98°C	10 sec.	
68°C	15 min.	
↓		
72°C	10 min.	

注) 変性条件は、使用機種と反応チューブの種類に合わせて設定する。設定の目安は、98°C 5 ~ 10 sec.、94°C 20 ~ 30 sec.。

## ●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。