

*P. furiosus*や*T. kodakaraensis*由来酵素を超える高反応成功率!

NEW

Tks Gflex™ DNA Polymerase

PCR増幅の成功率が著しく向上! 様々な場面でお試ください!

他酵素では増幅困難な 難しいターゲット

独自の伸長因子と新成分の採用で
高速性と高特異性を両立!

GCリッチ or ATリッチ ターゲット

70%を超えるようなGCリッチ or ATリッチ
ターゲットなど、配列が偏っていてもOK!

幅広い鋳型量に対応

微量DNAの検出はもちろん、多量のcDNAを
持ち込んだ場合も確実に増幅!

クルードサンプル

PCR阻害物質を吸収する成分&増幅増強成分
のバッファー系への添加で対応力アップ!

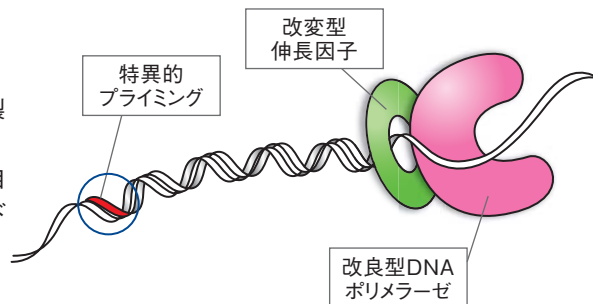
● 改良型の α 型酵素で鋳型への非特異的結合を抑制

鋳型DNAに対してDNAポリメラーゼそのものが非特異的に結合することによって、プライマーからの伸長反応が阻害される現象が見られることがあります。一般的に α 型酵素はこの非特異的結合が起こりやすく、そのためにPCR増幅が困難になる面がありました。Tks Gflex™ DNA Polymeraseは、*Thermococcus*属細菌由来のDNAポリメラーゼをベースに改良を加え、鋳型DNAへの過剰な結合を抑制することに成功しました。 α 型酵素特有の高い正確性に加えて優れた反応性を示します。

● 独自の伸長因子を採用

生体内で、DNAポリメラーゼは伸長因子と複合体を形成してDNA複製を行っています。

上記の改良型酵素とPrimeSTAR®シリーズでも採用している弊社独自の改良型伸長因子を組み合わせることで、優れた伸長性と反応スピードを持つ酵素となりました。



● 特異性の高い増幅 新技術

プライミングの特異性を向上させる物質をバッファー系に加えました(特許出願中)。これにより、高速でありながら極めて特異性の高い増幅が可能となりました。

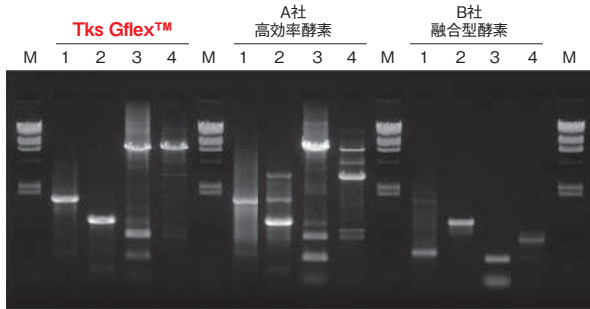
※プライミングとは…

DNAポリメラーゼはプライマーの3'末端で酵素/DNA複合体を形成し、鎖伸長を始めます。この複合体形成が「プライミング」です。

Tks Gflex™ならPCRの増幅成功率が大幅にアップ!

■ 実施例1：増幅困難なターゲットに対する反応性

これまで増幅することが極めて困難であったターゲットに対する反応性を他社酵素と比較しました。
Tks Gflex™ではいずれのターゲットについても目的の産物が増幅し、他社酵素よりも良好で特異性の高い増幅結果が得られました。



ターゲット： レーン1： Mouse *Sdf1a* 1.8 kb
2： *B. subtilis AprE* 1.1 kb
3： pRetroX-G1-Red 7.2 kb
4： pBeloBAC11 7.5 kb
M： λ -Hind III digest

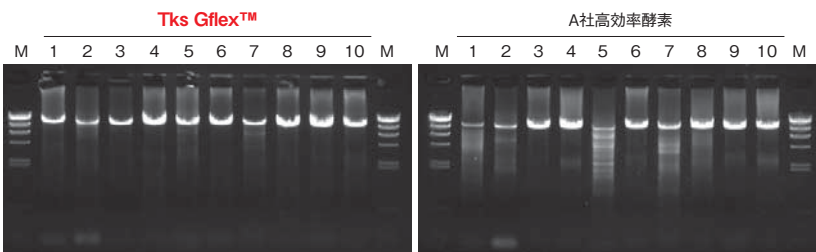
反応液組成およびPCR条件；各酵素の推奨条件

Tks Gflex™のPCR条件：	
1 & 2： 94℃ 1 min.	3 & 4： 94℃ 1 min.
↓	↓
98℃ 10 sec.	98℃ 10 sec.
60℃ 15 sec.	68℃ 30 sec./kb
68℃ 30 sec./kb	30 cycles

(弊社比較データ)

■ 実施例2：増幅成功率の比較

ヒトゲノムDNAを鋳型として、各種ターゲットの遺伝子領域をカバーする約10 kbの領域を、各酵素の推奨条件で増幅してその増幅成功率を確認しました。その結果、Tks Gflex™では10種中すべてのターゲットで目的の増幅産物が得られ、他社酵素よりも特異性の高い良好な結果となりました。



鋳型；ヒトゲノムDNA 100 ng / 50 μl 反応系

ターゲット；

レーン 1： *HBB* 5： *TFRC* 9： *AMPD*
2： *TGFB1* 6： *EGFR* 10： *DMD*
3： *TP53* 7： *FGFR* M： λ -Hind III digest
4： *BCL2* 8： *IRS1*

反応液組成およびPCR条件；各酵素の推奨条件

Tks Gflex™のPCR条件：	
94℃ 1 min.	
↓	
98℃ 10 sec.	30 cycles
68℃ 5 min.	

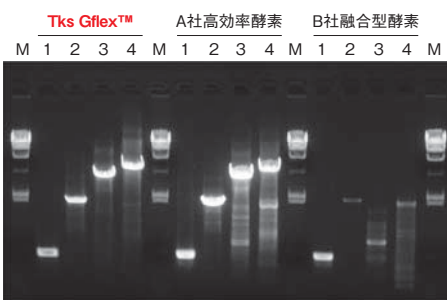
(弊社比較データ)

GCリッチ / ATリッチターゲットにも対応

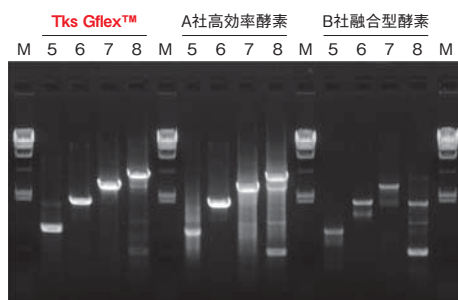
■ 実施例3：GCリッチまたはATリッチターゲットにおける反応性

バッファー系に添加したプライミングの特異性を向上させる物質の効果により、極端なGCリッチまたはATリッチ領域など、非特異的な増幅が起きやすいターゲットに対しても優れた反応性を示し、よりバックグラウンドの少ない特異性の高い増幅が可能となりました。

【GCリッチターゲット】



【ATリッチターゲット】



反応液組成およびPCR条件；各酵素の推奨条件

Tks Gflex™のPCR条件：	
GCリッチ 94℃ 1 min.	ATリッチ 94℃ 1 min.
↓	↓
98℃ 10 sec.	98℃ 10 sec.
68℃ 30 sec./kb	60℃ 15 sec.
	68℃ 30 sec./kb
	30 cycles

ターゲット；
*Tth*ゲノムDNA

レーン1： 0.5 kb (GC 72%)
2： 2 kb (GC 74%)
3： 4 kb (GC 73%)
4： 5 kb (GC 73%)

ヒトゲノムDNA

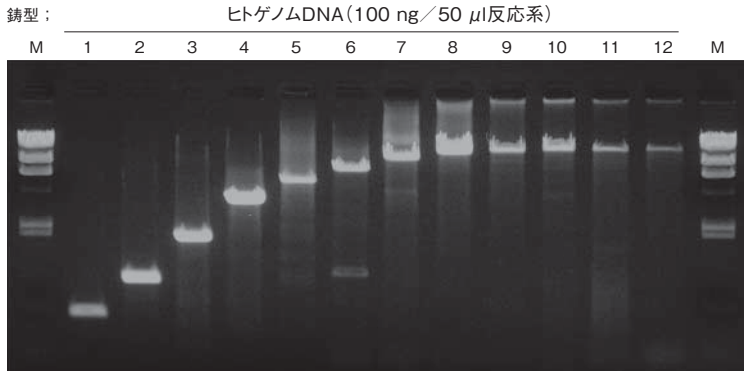
5： 1 kb (AT 65%)
6： 2 kb (AT 64%)
7： 3 kb (AT 62%)
8： 4 kb (AT 60%)
M： λ -Hind III digest

(弊社比較データ)

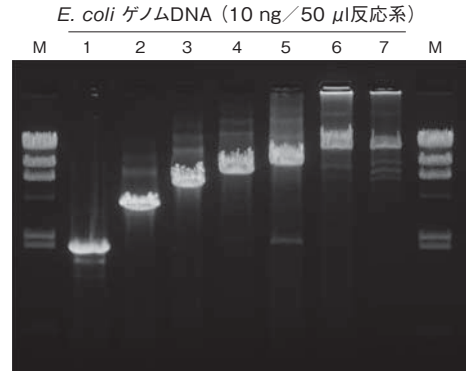
長鎖増幅もOK!

■ 実施例4：長鎖ターゲットの増幅

Tks Gflex™の長鎖増幅能について検証しました。ゲノムDNAを鋳型として30 kbまでの増幅が確認できました(λDNAを鋳型とした場合は40 kbの増幅を確認)。本酵素は、独自の改変型伸長因子の採用により、長鎖増幅においても30秒/kbでの伸長反応が可能です。



増幅サイズ；
 レーン1： 0.5 kb 5： 6 kb 9： 20 kb M： λ-Hind III digest
 2： 1 kb 6： 8.5 kb 10： 24 kb
 3： 2 kb 7： 12 kb 11： 27 kb
 4： 4 kb 8： 15 kb 12： 30 kb

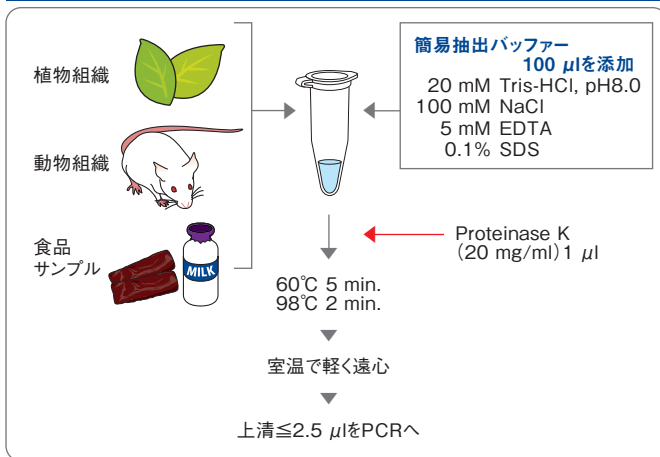


増幅サイズ；
 レーン1： 2 kb 4： 8 kb 7： 30 kb
 2： 4 kb 5： 10 kb M： λ-Hind III digest
 3： 6 kb 6： 20 kb

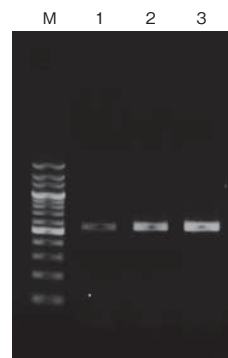
クルードサンプルからも強力に増幅

マウス尾ライセートをはじめとする様々なクルードサンプルを鋳型とした場合でも、Tks Gflex™を用いることで高効率なPCRが可能です。

各種サンプルからのライセート調製方法



■ 実施例5：マウス尾ライセートからの増幅

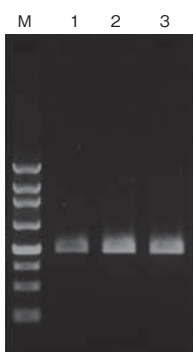


サンプル；マウス尾 2 mm
 ターゲット；mouse Raver2(1.1 kb)
 鋳型量(ライセート量/25 μl反応液)；
 レーン1：0.4 μl
 2：1.0 μl
 3：2.5 μl
 M：200 bp DNA Ladder

PCR条件(実験例 5~7)；

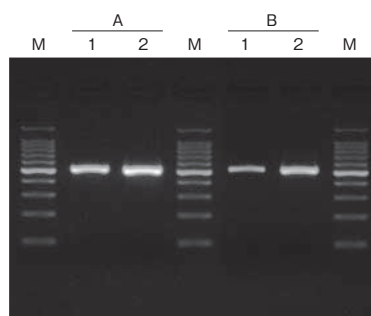
94°C 1 min.
 ↓
 98°C 10 sec.
 60°C 15 sec.
 68°C 30 sec./kb } 30 cycles

■ 実施例6：トマト葉抽出液からの増幅



サンプル；トマト葉 φ2 mm
 ターゲット；cox1 (1 kb)
 鋳型量(ライセート量/25 μl反応液)；
 レーン1：0.4 μl
 2：1.0 μl
 3：2.5 μl
 M：250 bp DNA Ladder

■ 実施例7：加工食品ライセートからの増幅

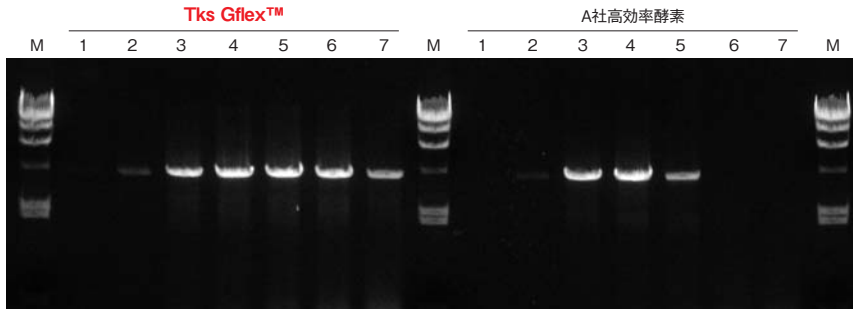


サンプル；
 A：ビーフジャーキー 20 mm³
 B：牛乳 20 μl
 ターゲット；ウシミトコンドリアDNA cox1 (0.5 kb)
 鋳型量(ライセート量/20 μl反応液)；
 レーン1：0.4 μl
 2：2.0 μl
 M：100 bp DNA Ladder

幅広い鋳型量に対応

■ 実施例8：検出感度、鋳型許容量の比較

一般的に、 α 型酵素は反応に最適な鋳型濃度の範囲が狭く、特に鋳型DNAを多量に加えた場合にかえってPCR反応が阻害される傾向があります。Tks Gflex™はPCR増幅の阻害要因となる過剰な鋳型DNAへの非特異的結合を抑制した改良型酵素を採用しているため、他社酵素に比べて鋳型許容量の幅が格段に広く、微量の鋳型DNAからのターゲット増幅はもちろん、発現量の極めて低いターゲットを検出するために多量のcDNAを鋳型として持ち込んだ場合などでも、確実な増幅が期待できます。ここではcDNAを鋳型として、検出感度、鋳型許容量の比較を行いました。



PCR条件；各酵素の推奨条件

Tks Gflex™のPCR条件：
 98°C 10 sec.
 60°C 15 sec.
 68°C 2 min. } 30 cycles

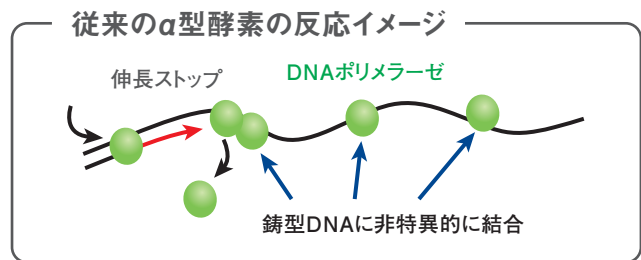
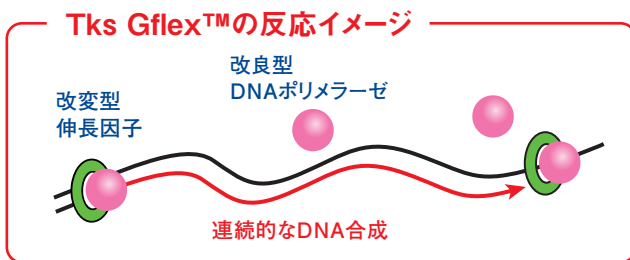
(弊社比較データ)

鋳型量；cDNA (total RNA相当量) / 50 μ l 反応系

レーン 1：2.5 ng 2：25 ng 3：250 ng 4：500 ng 5：750 ng 6：1 μ g 7：1.5 μ g

M： λ -Hind III digest

ターゲット；Human TFR 4 kb



〈価格表〉

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
Tks Gflex™ DNA Polymerase	250 U (200回)※	R060A	¥30,000
	1,000 U (800回)※	R060B (A×4)	¥96,000

※50 μ l 反応の場合の反応回数です

★トライアル用の無償サンプル品(40回分)もご用意しています。弊社販売課またはご利用の販売代理店様にお申し付けください。

〈関連製品〉

製品名	概要	容量	製品コード	価格(税別)
Mighty Cloning Reagent Set (Blunt End)	平滑末端クローニング	20回	6027	¥29,000

Hot Start PCR：Licensed under U.S. Patent No. 5,338,671 and 5,587,287 and corresponding patents in other countries.

その他のライセンス(最新のライセンス情報)に関しては弊社ウェブサイトにてご確認ください。

本パンフレットに記載されている商品名等は、特に記載はなくても各社の商標、または登録商標です。

・本パンフレットで紹介した製品はすべて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。

・本パンフレット記載の価格は2012年5月1日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。

タカラバイオ株式会社

東日本支店 TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282

西日本支店 TEL 077-565-6969 FAX 077-565-6995

テクニカルサポートライン

製品の技術的なご質問に専門の係がお応えします。

TEL 077-565-6999 FAX 077-565-6995

Website <http://www.takara-bio.co.jp>

取扱店