Tks Gflex™ DNA Polymerase

Code No. R060A Size: 250 units (200 rxn)

Shipping at -20° C Store at -20° C

Components:

Tks Gflex DNA Polymerase 250 U 2 X Gflex PCR Buffer (Mg²⁺, dNTP plus)* 1 ml x 5

* : Mg²⁺ conc. (2 X) 2 mM dNTP conc. (2 X) ea. 400 μ M

Lot No.

Conc.: 1.25 units/ μ I Volume: 200 μ I

Expiration Date:

Description:

Tks Gflex DNA Polymerase is a PCR enzyme improved based on a high fidelity DNA polymerase derived from *Thermococcus* sp. This enzyme possesses high fidelity of a family B DNA polymerase and an excellent extension activity by suppressing its non-specific binding to template DNA. The Takara Bio's original strong elongation factor and the newly developed accelerator for specific priming (patent pending) contribute to high-speed amplification with extremely high specificity from templates in wide range of nucleic acid concentration. Therefore this polymerase makes PCR amplification succeeded in most cases with such targets much longer and that contain GC- or AT-rich sequences difficult to amplify by general DNA polymerases.

The elements which absorb the substances inhibiting PCR or accelerate amplification in the reaction buffer enable PCR using crude samples to be in high efficiency.

This polymerase is for Hot Start PCR utilizing a monoclonal antibody which suppresses DNA polymerase activity and 3′-5′ exonuclease activity at room temperature.

Storage Buffer: 50 mM Tris-HCl, pH8.2 at 4°C

100 mM NaCl 0.1 mM EDTA 1 mM DTT 0.1% Tween 20 0.1% Nonidet P-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.

Purity:

Nicking, endonuclease and exonuclease activity were not detected after the incubation of 1 μ g of supercoiled pBR322 DNA, 1 μ g of λ DNA or 1 μ g of λ -Hind III digest with 15 units of this enzyme for 1 hour at 74°C .

Application:

DNA amplification by Polymerase Chain Reaction (PCR). This enzyme is recommended for:

- $\bullet \ \mathsf{PCR} \ \mathsf{amplification} \ \mathsf{with} \ \mathsf{GC}\text{--}, or \ \mathsf{AT}\text{--} \mathsf{rich} \ \mathsf{templates}.$
- PCR amplification of long targets as more than 10 kb.
- PCR amplification with crude extracts.
- PCR amplification with cDNA containing a large amount of nucleic acids.

PCR products : Most of PCR products obtained using Tks Gflex DNA Polymerase will possess blunt-ends. The obtained PCR products can be directly cloned into blunt-end vectors. (If necessary, phosphorylate PCR products before cloning.)

Electrophoresis: TAE buffer is recommended for agarose gel electrophoresis of amplified products that are obtained using Tks Gflex DNA Polymerase. Use of TBE buffer may result in DNA band patterns which are enlarged at the gel bottom.

PCR test: Good performance of this product was confirmed by PCR using human genomic DNA as a template (amplified fragments; 0.5, 4, 30 kb).

General reaction mixture for PCR (total 50 μ I):

 $\begin{array}{ll} \text{Tks Gflex DNA Polymerase } (1.25 \text{ units/} \mu \text{I}) & 1 \, \mu \text{I} \\ \text{2X Gflex PCR Buffer } (\text{Mg}^{2+}, \text{dNTP plus}) & 25 \, \mu \text{I} \\ \text{Template} & < 500 \, \text{ng} \end{array}$

Primer 1 0.2 - 0.3 μ M (final conc.) Primer 2 0.2 - 0.3 μ M (final conc.) Sterilized distilled water up to 50 μ l

PCR conditions (an example):

98°C 10 sec. 60°C 15 sec. 68°C 30 sec./kb 30 cycles or 68°C 30 sec./kb 30 cycle

(**Note**) Annealing temperature depends on the Tm of primers for PCR. The initial denaturation of templates at 94°C for 1 min. is recommended for long or GC-rich targets. The extension time of 1 min./ kb is recommended for crude samples.

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: 5,789,224, 5,618,711, 6,127,155 and claims outside the US corresponding to expired US Patent No. 5,079,352. 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, 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.

[L15] Hot Start PCR

Licensed under U.S. Patent No. 5.338,671 and 5,587,287, and corresponding patents in other countries.

[M54] PrimeSTAR HS DNA Polymerase

This product is covered by the claims of U.S. Patent Nos. 7,704,713 and its foreign counterparts.

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. 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.

Tks Gflex® DNA Polymerase

Code No. R060A Size: 250 units (200 回)

Shipping at − 20°C Store at − 20°C

内容:

Tks Gflex DNA Polymerase

250 U

 $2 \times Gflex PCR Buffer (Mg^{2+}, dNTP plus)*$

1 ml x 5

*: Mg²⁺ 濃度(2 ×) 2 mM dNTP 濃度(2 ×) 各 400 μM

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。)

●製品説明

本酵素は、Thermococcus 属古細菌由来の DNA polymerase をベースに、反応阻害の要因となる酵素の鋳型 DNA に対する非特異的結合を抑制した改良型 PCR 酵素であり、 a 型特有の高い正確性に加えて優れた伸長性を有している。さらに、タカラバイオ独自の強力な伸長因子と新規開発したプライミング特異性の向上物質 (特許出願中)を反応系に加えたことにより、幅広い核酸濃度のサンプルに対して、高速で極めて特異的な増幅を実現した。その結果、一般的な PCR 酵素では増幅が困難な GC-rich、AT-rich などの難増幅配列や長鎖のターゲットに対する PCR 増幅の成功率が著しく向上している。また、反応バッファーに PCR 阻害物質を吸収する成分および増幅を増強する成分を加えたことにより、クルードサンプルからも高効率の PCR が可能である。

なお、本酵素は常温下での DNA polymerase 活性および 3'-5'exonuclease 活性を抑えるモノクローナル抗体を用いたホットスタート PCR に対応し ている。

●形状

50 mM Tris-HCI緩衝液 (pH8.2 at 4℃)

100 mM NaCl 0.1 mM EDTA 1 mM DTT

0.1% Tween 200.1% Nonidet P-4050% 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、74℃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。

●純度

- 1. 15 U の本酵素と 1 µg の supercoiled pBR322 DNA を 74℃、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。
- 15 U の本酵素と 1 µg の λ DNA を 74℃、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. 15 U の本酵素と 1 µg の λ-Hind III 分解物を 74℃、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。

●田涂

Polymerase Chain Reaction(PCR) 法による DNA 増幅 特に以下の PCR 増幅に推奨:

- ・GC rich, AT rich など通常酵素では増幅困難な鋳型からの増幅
- 10 kb 以上の長鎖 DNA の増幅
- クルードサンプルからの増幅
- ・核酸を多く含む cDNA からの増幅

● PCR 産物について

Tks Gflex DNA Polymerase を用いて増幅した PCR 産物のほとんどは平滑末端である。したがって、その PCR 産物をそのまま(必要に応じてリン酸化を行って)平滑末端のベクターにクローニングすることが可能である。

●増幅産物の電気泳動

Tks Gflex DNA Polymerase を用いて増幅した PCR 産物の電気泳動には、TAE Buffer の使用を推奨する。TBE Buffer を用いると泳動パターンがやや裾広がりになり、きれいな泳動結果が得られない場合がある。

●品質検定

ヒトゲノム DNA を鋳型とした PCR (増幅産物 0.5 kb、4 kb、30 kb) において良好な増幅が見られることを確認している。

●一般的な PCR 反応液組成 (total 50 μl)

Tks Gflex DNA Polymerase (1.25 units/ μ I) 1 μ I 2 × Gflex PCR Buffer (Mg²⁺, dNTP plus) 25 μ I Template < 500 ng

Primer 1 $0.2 \sim 0.3 \ \mu \, \text{M}$ (final conc.) Primer 2 $0.2 \sim 0.3 \ \mu \, \text{M}$ (final conc.) 滅菌蒸留水 up to $50 \ \mu \, \text{l}$

● PCR 条件(例)

98°C 10 sec. 60°C 15 sec. 68°C 30 sec./kb

または、

98°C 10 sec. 68°C 30 sec./kb 30 cycles

注)アニーリング温度はプライマーの Tm 値に合わせて設定する。 長鎖や GC-rich なターゲットについては、94℃ 1 分で鋳型の初期

変性を行うことを推奨する。 また、クルードサンプルから増幅する場合は、伸長時間を 1 min./kb に設定することを推奨する。

※ ウェブカタログで、本製品のより詳しい説明書をご覧いただけます。

●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。

ライセンスに関する最新の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。

v201304Da