

BcaBEST™ DNA Polymerase ver.2.0

Code No. RR380A **Size:** **1,600 U**
Conc.: **8 U/μl**

Supplied Reagents:

BcaBEST DNA Polymerase ver.2.0 **200 μl**
2X BcaBEST Buffer **1.25 ml x 2**

Description:

BcaBEST DNA Polymerase ver.2.0 is an updated product of the BcaBEST DNA Polymerase that lacks 5' → 3' exonuclease activity, originating from a thermophilic bacterium *Bacillus caldotenax*. By introducing mutations into the protein, the activity of both DNA polymerase and reverse transcriptase is highly enhanced while exerting the original strong strand-displacement activity. Therefore, the isothermal amplifications using this enzyme enable to amplify the target product from a little nucleic acid in a shorter time. This product also contains a reaction buffer including dNTP, which is directly used for LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification) assays for testing the detection of a certain target gene.

Storage: -20°C

Source:

Escherichia coli carrying a plasmid containing the gene for BcaBEST DNA Polymerase ver.2.0

Properties:

Molecular mass: approx. 68 kDa

Unit definition:

One unit is defined as the amount of enzyme that incorporates 210 nmol of dNTP into acid-insoluble precipitate in 30 minute at 65°C.

Reaction Mixture for Unit Definition:

25 mM	TAPS, pH9.3 at 25°C
50 mM	KCl
2 mM	MgCl ₂
0.1 mM	DTT
200 μM	dATP • dGTP • dCTP each
100 μM	dTTP
10 μCi	[³ H]-dTTP
0.25 mg/ml	activated salmon sperm DNA

Quality Control Data:

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

Applications:

1. LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification)
2. RCA (Rolling Circle Amplification)

Precautions for use:

1. Don't mix the enzyme vigorously.
2. Extreme cautions should be taken during reaction preparation to avoid contamination. If analyzing the products after reaction, execute in a different area from the reaction preparation.
3. Reaction temperatures above 70°C are not recommended. Hence this enzyme can't be used for conventional PCR.

LAMP Reaction Example:

Nuclease-free water	x μl
2X BcaBEST Buffer	12.5 μl
10X LAMP primer mix*1	2.5 μl
BcaBEST DNA Polymerase ver.2.0 (8 U/μl)	0.3 - 1 μl*2
Sample*3	e.g. 2 μl
<hr/>	
Total	25 μl

Incubate at 60 - 65°C for 30 minutes.*4

- *1 FIP/BIP primers : 16 μM
 F3/B3 primers : 2 μM
 LoopF/B primers : 8 μM

*1,2,4 Optimize reaction systems, including primer and enzyme concentrations, and reaction temperature and time, due to their variations depending on the target and primer sequence. Use of high concentration of enzyme would reduce the detection (amplification) time but might also increase the risk of non-specific amplification. It is strongly recommended to include a no-template control reaction to ensure the specificity.

*3 In order to prevent the non-specific reaction during its preparation, sample should be added lastly. In case of RNA target, add the Reverse Transcriptase XL (AMV) (5 U/μl) to be a final concentration of 0.04 U/μl.

Note: Various detection methods can be combined with the reaction, such as a color indicator detection by eye and a fluorometric detection by real-time instrument. Use an appropriate method depending on your purpose.

References:

- 1) Tomita N, Mori Y, Kanda H, and Notomi T. *Nat Protoc.* (2008) **3**: 877-882.
- 2) Zhao Y, Chen F, Li Q, Wang L, and Fan C. *Chem Rev.* (2015) **115**: 12491-12545.

Related products:

Reverse Transcriptase XL (AMV) for RT-PCR Kit (Cat. #2630A)
RNase-free Water (Cat. #9012)

BcaBEST is a 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.takarabio.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.

BcaBEST™ DNA Polymerase ver.2.0

Code No. RR380A 容量： 1,600 U
濃度： 8 U/μl

添付試薬：

BcaBEST DNA Polymerase ver.2.0 200 μl
2 × BcaBEST Buffer 1.25 ml × 2

● 製品説明

BcaBEST DNA Polymerase ver.2.0 は、*Bacillus caldotenax* を由来とする 5' → 3' エクソヌクレアーゼ活性欠損型 DNA ポリメラーゼ (BcaBEST DNA Polymerase) のバージョンアップ製品である。従来の高い鎖置換活性に加え、変異導入により DNA ポリメラーゼ活性と逆転写活性が増強されている。そのため、本酵素を用いた等温増幅では、より短時間で微量核酸の増幅が可能となっている。本製品には、dNTP を含む LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification) 用の反応バッファーが含まれ、ターゲット遺伝子の検出系構築に使用できる。

● 保存 - 20℃

● 起源

Escherichia coli carrying a plasmid containing the gene for BcaBEST DNA Polymerase ver.2.0

● 一般的性質

質量： 約 68 kDa

● 活性の定義

65℃において 30 分間に 210 nmol の dNTP を酸不溶性沈殿物に取り込む酵素量を 1 U とする。

● 活性測定用反応液組成

25 mM	TAPS (pH9.3, 25℃)
50 mM	KCl
2 mM	MgCl ₂
0.1 mM	DTT
各 200 μM	dATP・dGTP・dCTP
100 μM	dTTP
10 μCi	[³ H]-dTTP
0.25 mg/ml	活性化サケ精子 DNA

● 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からダウンロードできます。

● 用途

1. LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification)
2. RCA (Rolling Circle Amplification)

● 使用上の注意

1. 本酵素の激しい攪拌は行わないでください。
2. 試薬調製の際は、コンタミネーションがないように細心の注意を払ってください。反応後のサンプルを解析する際は、試薬調製とは別のエリアで行ってください。
3. 本酵素の 70℃以上での使用はお勧めできません。そのため、通常の PCR には使用できません。

● LAMP 使用例

Nuclease-free water	x μl
2 × BcaBEST Buffer	12.5 μl
10 × LAMP primer mix*1	2.5 μl
BcaBEST DNA Polymerase ver.2.0 (8 U/μl)	0.3 ~ 1 μl*2
サンプル*3	例：2 μl
<hr/>	
Total	25 μl

60 ~ 65℃で 30 分間インキュベーションする。*4

*1： FIP/BIP primers : 16 μM
F3/B3 primers : 2 μM
LoopF/B primers : 8 μM

*1,2,4： 至適なプライマー濃度、酵素濃度、反応温度・時間は、ターゲット遺伝子やプライマー配列によって異なるので適宜調整する。酵素濃度が高い場合、検出 (増幅) 時間は短縮されるものの非特異増幅のリスクが高まるので、鑄型無しのコントロール反応を行い、特異性に問題がないかを確認する。

*3： 反応液準備中での非特異反応を避けるため、サンプルは最後に添加する。ターゲットが RNA である場合は、Reverse Transcriptase XL (AMV) (5 U/μl) を最終濃度が 0.04 U/μl になるように添加する。

注： 検出においては、変色指示薬を用いた肉眼での確認から、蛍光物質を用いたリアルタイム装置での検出まで、様々な方法を用いることができます。目的に応じた検出方法をご使用ください。

● 参考文献

- 1) Tomita N, Mori Y, Kanda H, and Notomi T. *Nat Protoc.* (2008) 3: 877-882.
- 2) Zhao Y, Chen F, Li Q, Wang L, and Fan C. *Chem Rev.* (2015) 115: 12491-12545.

● 関連製品

Reverse Transcriptase XL (AMV) for RT-PCR Kit (製品コード 2630A)
RNase-free Water (製品コード 9012)

● 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。