

BcaBEST® DNA Polymerase ver.2.0 with Aptamer

Code No. RR381A **Size:** 1,600 U
Conc.: 8 U/ μ l

Supplied Reagents:

BcaBEST DNA Polymerase ver.2.0 with Aptamer 200 μ l
10X BcaBEST Buffer 500 μ l

Description:

This product is an upgraded version of BcaBEST DNA Polymerase ver.2.0 (Cat. #RR380A/B), incorporating an aptamer that suppresses enzyme activity at room temperature. In addition to the high polymerase activity and strand-displacement activity originally possessed by this enzyme, the aptamer suppresses enzyme activity before the start of the reaction, thereby reducing non-specific amplification. These features enable isothermal amplification using this enzyme to achieve nucleic acid amplification in a shorter time with higher specificity. This product also contains a reaction buffer including dNTPs for LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification), which can be used to construct target gene detection systems.

Storage: -20°C

Source:

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

Unit Definition:

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

Reaction Mixture for Unit Definition:

25 mM	TAPS, pH 9.3 at 25°C
50 mM	KCl
2 mM	MgCl ₂
0.1 mM	DTT
200 μ M	dATP-dGTP-dCTP each
100 μ M	dTTP
10 μ Ci	[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.
4. Crystals or precipitates may form in the 10X BcaBEST Buffer during storage. Fully dissolve at room temperature or 37°C and mix well before use.

LAMP Reaction Example:

Nuclease-free water	x μ l
10X BcaBEST Buffer	2.5 μ l
10X LAMP primer mix* ¹	2.5 μ l
BcaBEST DNA Polymerase ver.2.0 with Aptamer (8 U/ μ l)* ²	1 μ l
Sample* ³	2 μ l
Total	25 μ l

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

- *1 FIP/BIP primers : 16 μ M
F3/B3 primers : 2 μ M
LoopF/B primers : 8 μ M
- *1,2,4 Optimize reaction systems, including primer and enzyme concentrations, and reaction temperature and time, due to their variations depending on the target gene and primer sequence.
- *3 Add sample lastly. In case of RNA target, add the Reverse Transcriptase XL (AMV) (5 U/ μ l) to a final concentration of 0.04 U/ μ l.

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

References:

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

Related Products:

BcaBEST® DNA Polymerase ver.2.0 (Cat. #RR380A/B)*
BcaBEST® Isothermal FluorDetect Kit (DNA/RNA) (Cat. #RR385S/A/B)
Reverse Transcriptase XL (AMV) for RT-PCR Kit (Cat. #2630A)*
TB Green® Solution (Cat. #9300A)
RNase-free Water (Cat. #9012)

* Not available in all geographic locations. Check for availability in your area.

BcaBEST and TB Green are registered trademarks 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 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 with Aptamer

Code No. RR381A 容量： 1,600 U
濃度： 8 U/ μ l

添付試薬：

BcaBEST DNA Polymerase ver.2.0 with Aptamer 200 μ l
10X BcaBEST Buffer 500 μ l

●製品説明

本製品は、BcaBEST DNA Polymerase ver.2.0 (製品コード RR380A/B) に、常温での活性を抑制するアプタマーを導入したバージョンアップ製品である。本酵素が元来有する高いポリメラーゼ活性および鎖置換活性に加え、アプタマーの導入により反応開始前の酵素活性が抑制されるため、非特異的増幅を低減できる。これらの特長により、本酵素を用いた等温増幅では、より短時間かつ特異性の高い核酸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

●活性の定数

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 μ M	dATP-dGTP-dCTP
100 μ M	dTTP
10 μ Ci	[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。
4. 10X BcaBEST Buffer は低温保存中に結晶や沈殿を生じる場合があります。使用前に室温または 37℃で完全に溶解し、十分に混和してください。

●LAMP 使用例

Nuclease-free water	x μ l
10X BcaBEST Buffer	2.5 μ l
10X LAMP primer mix * 1	2.5 μ l
BcaBEST DNA Polymerase ver.2.0 with Aptamer (8 U/ μ l) * 2	1 μ l
サンプル * 3	2 μ l
Total	25 μ l

60 ~ 65℃で 30 分間インキュベーションする。* 4

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

* 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。

* 3: 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/ μ l) を最終濃度が 0.04 U/ μ l 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、TB Green® などの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, Notomi T. *Nat Protoc.* 2008;3:877-882.
- 2) Zhao Y, Chen F, Li Q, Wang L, Fan C. *Chem Rev.* 2015;115:12491-12545.

●関連製品

BcaBEST® DNA Polymerase ver.2.0 (製品コード RR380A/B)
BcaBEST® Isothermal FluorDetect Kit (DNA/RNA) (製品コード RR385S/A/B)
Reverse Transcriptase XL (AMV) for RT-PCR Kit (製品コード 2630A)
TB Green® Solution (製品コード 9300A)
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。

v202609w

タカラバイオ株式会社

ウェブサイト <https://www.takara-bio.co.jp>

製品についての技術的なお問い合わせ先

テクニカルサポートライン

Tel 077-565-6999
Fax 077-565-6995