

TaKaRa LA Taq® DNA Polymerase

Code No. RR002A

Size: 125 U

Shipping at - 20°C

Store at - 20°C

Components :

| | |
|--|---------------|
| TaKaRa LA Taq | 125 U |
| 10X LA PCR Buffer II (Mg²⁺ free) | 1 ml |
| 25 mM MgCl₂ | 1 ml |
| dNTP Mixture (2.5 mM each) | 400 μl |

Conc. : 5 U/μl

Volume : 25 μl

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% | Nonidet P-40 |
| 50% | Glycerol |

Supplied dNTP Mixture (2.5 mM each)

The dNTP Mixture is ready for use in PCR without dilution.

Form : Dissolved in water (sodium salts) (pH 7 - 9)

Purity : ≥ 98% for each dNTP

Unit definition :

One unit is the amount of enzyme that incorporates 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 ₂ |
| 0.1 mM | DTT |
| 200 μM | each dATP · dGTP · dCTP |
| 100 μM | [³ H]-dTTP |
| 0.25 mg/ml | activated salmon sperm DNA |

Purity:

Nicking activity was not detected after the incubation of 1 μg of supercoiled pBR322 DNA with 25 units of this enzyme for 1 hour at 74°C.

Endonuclease and exonuclease activity were not detected after the incubation of 1 μg of λ DNA or λ-Hind III digest with 25 units of this enzyme for 16 hours at 74°C.

Applications :

For DNA amplification by PCR. This enzyme is optimized for long range PCR (>15 kb fragments).

PCR products :

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

PCR test :

Good performance in PCR was confirmed by amplification of 20 kb and 35 kb fragment from λ DNA template.

Good performance in PCR was confirmed by amplification of the β-globin gene (17.5 kb) using human genomic DNA template.

General reaction mixture for PCR (50 μl reaction volume) :

| | |
|--|----------------------------|
| TaKaRa LA Taq (5 U/μl) | 0.5 μl |
| 10X LA PCR Buffer II (Mg ²⁺ free) | 5 μl |
| 25 mM MgCl ₂ | (final 2.5 mM) 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 (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.

< Cool Start Method >

The "Cool Start Method" provides more accurate amplification and minimizes amplification of nonspecific products. This simple method does not require specialized enzymes or additional reagents.

Cool Start Method Protocol

- 1) Keep all reagents on ice until use.
- 2) Prepare the reaction mixture on ice.*1,2
 - *1 Order of reagent addition does not influence results.
 - *2 Results will not be affected by leaving the mixture on ice for up to 30 min before thermal cycling.
- 3) Set the thermal cycler with the designated program.*3
 - *3 PCR conditions do not need to be changed for the Cool Start Method.
- 4) Set the tubes in the thermal cycler and start cycling immediately.

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 6973 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.

TaKaRa LA Taq[®] DNA Polymerase

Code No. RR002A
Size: 125 U

Shipping at - 20°C
Store at - 20°C

内容:

| | |
|---|--------|
| TaKaRa LA Taq | 125 U |
| 10×LA PCR Buffer II (Mg ²⁺ free) | 1 ml |
| 25 mM MgCl ₂ | 1 ml |
| dNTP Mixture (各 2.5 mM) | 400 μl |

濃度: 5 U/μl
容量: 25 μl

●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% | Nonidet P-40 |
| 50% | 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、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 ₂ |
| 0.1 mM | DTT |
| 各 200 μM | dATP・dGTP・dCTP |
| 100 μM | [³ H]-dTTP |
| 0.25 mg/ml | 活性化サケ精子 DNA |

●純度

- 25 U の本酵素と 1 μg 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。
- 25 U の本酵素と 1 μg の λDNA を 74°C、16 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。
- 25 U の本酵素と 1 μg の λ-Hind III 分解物を 74°C、16 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

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 検定

- λDNA を鋳型とした PCR 反応 (増幅産物: 20 kb、35 kb) において良好な増幅が見られることを確認している。
- ヒトゲノム DNA を鋳型とした PCR 反応 (β-グロビン遺伝子: 17.5 kb) において良好な増幅が見られることを確認している。

●PCR 産物について

TaKaRa LA Taq 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はかなり悪くなる。また、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。

●一般的な PCR 反応液量 (total 50 μl)

| | |
|---|--------------------------|
| TaKaRa LA Taq (5 U/μl) | 0.5 μl |
| 10×LA PCR Buffer II (Mg ²⁺ free) | 5 μl |
| 25 mM MgCl ₂ | 5 μl (最終濃度 2.5 mM) |
| dNTP Mixture (各 2.5 mM) | 8 μl |
| Template | < 1 μg |
| Primer 1 | 0.2~1.0 μM (final conc.) |
| Primer 2 | 0.2~1.0 μM (final conc.) |
| 滅菌精製水 | up to 50 μl |

●PCR 条件 (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.、あるいは 94°C 20 ~ 30 sec.。

dNTP Mixture (各 2.5 mM)

dATP、dCTP、dTTP、dGTP 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

◆Cool Start 法◆

下記の Cool Start 法により簡便に PCR 時の非特異的増幅を抑えることができる。

【プロトコール】

- 1) 試薬をすべて氷上に置く。
- 2) 試薬分注後の反応チューブは、ただちに氷上に置く。
(チューブに加える試薬の順番は問題にならない。調製後 30 分たつてから反応しても問題はない。)
- 3) サーマルサイクラーをスタートするだけの状態にしておく。(設定は既存のプログラムで OK。)
- 4) 反応チューブをサーマルサイクラーにセットし、ただちにスタートする。

●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。