

# One Shot LA PCR™ Mix Ver. 2.0

Code No. RR004      Size: 25 µl x 24  
(for 24 PCR reactions)

## Note :

Thaw vials of the required quantity just before use, since repeated freeze-thaw cycles reduce the enzyme activity.

## Components : (per one tube)

*TaKaRa LA Taq*\* \* : 2.5 U/25 µl  
dNTP Mixture : 2X conc. ; ea. 0.8 mM  
LA PCR Buffer II : 2X conc. ; including 5 mM Mg<sup>2+</sup>

## \* : Specification of *TaKaRa LA Taq* (Cat. #RR002)

### <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.

### <Reaction mixture for unit definition>

25 mM TAPS (pH 9.3 at 25°C)  
50 mM KCl  
2 mM MgCl<sub>2</sub>  
0.1 mM DTT  
200 µM each dATP · dGTP · dCTP  
100 µM [<sup>3</sup>H]-dTTP  
0.25 mg/ml activated salmon sperm DNA

### <Purity>

Nicking, endonuclease and exonuclease activity were not detected after the incubation of 0.6 µg of supercoiled pBR322 DNA, 0.6 µg of λ DNA or 0.6 µg of λ-Hind III digest with 10 units of this enzyme for 1 hour at 74°C.

Storage: -20°C

## Applications :

For DNA amplification by Polymerase Chain Reaction (PCR)

## PCR product :

As most PCR products amplified with *TaKaRa LA Taq* have one A added at 3'-termini, the obtained PCR product can be directly used for cloning into T-vector. But in the case of cloning the long length product (>5 kb) into T-Vector, the cloning efficiency becomes quite low. Also it is possible to clone the product in blunt-end vectors after blunting and phosphorylation of the end.

## Quality Control Data :

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

## General reaction mixture for PCR (total 50 µl) :

One Shot LA PCR Mix 25 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 condition (example) : when amplifying 17.5 kb DNA fragment

94°C 1 min  
↓  
98°C 10 sec } 30 cycles  
68°C 15 min }  
↓  
72°C 15 min

**Note :** Denaturation conditions vary depending on the thermal cycler and tubes used for PCR. The recommendation is for 5 - 10 sec at 98°C or 20 - 30 sec at 94°C.

## <Cool Start Method >

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

### Protocol of Cool Start Method

- 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 30 min before thermal cycling.
- 3) Set a thermal cycler with the designated program.\*3
  - \*3 PCR conditions dose not need to be changed for Cool Start.
- 4) Set the tubes in a thermal cycler and start thermal cycling immediately.

*TaKaRa LA Taq* is a registered trademark of Takara Bio Inc.

LA PCR 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 6973 or from our website at [www.takara-bio.com](http://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.

# One Shot LA PCR™ Mix Ver. 2.0

Code No. RR004

容量： 25  $\mu$ l  $\times$  24  
(24 回 PCR 反応分)

## ご注意

凍結融解の繰り返しにより活性が低下しますので、必要本数だけ融解してご使用ください。

## ●内容 (1 チューブあたり)

TaKaRa LA Taq\* : 2.5 U/25  $\mu$ l  
dNTP Mixture : 2  $\times$  conc. ; ea. 0.8 mM  
LA PCR Buffer II : 2  $\times$  conc. ; including 5 mM Mg<sup>2+</sup>

\* : TaKaRa LA Taq (製品コード RR002)

### <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<sub>2</sub>  
0.1 mM DTT  
各 200  $\mu$ M dATP・dGTP・dCTP  
100  $\mu$ M [<sup>3</sup>H]-dTTP  
0.25 mg/ml 活性化サケ精子 DNA

### <純度>

- 10 U の本酵素と 0.6  $\mu$ g の  $\lambda$ -Hind III 分解物を 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。
- 10 U の本酵素と 0.6  $\mu$ g 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。
- 10 U の本酵素と 0.6  $\mu$ g の  $\lambda$ 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。

●用途 PCR 法による DNA 増幅

## ●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のドキュメントセンターからダウンロードできます。

## ●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がかかなり悪くなる。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 $\mu$ l PCR)

One Shot LA PCR Mix	25 $\mu$ l
Template	< 1 $\mu$ g
Primer 1	0.2 ~ 1.0 $\mu$ M (final conc.)
Primer 2	0.2 ~ 1.0 $\mu$ M (final conc.)
滅菌精製水	up to 50 $\mu$ l

## ●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	15 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.。

## ◆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。

v201902Da

タカラバイオ株式会社

ウェブサイト <http://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