PrimeSTAR® LongSeq DNA Polymerase

Code No. R055S **Size: 1 ml (for 40 reactions)**

Code No. R055A **Size: 1 ml x 5 (for 200 reactions)**

Description:
PrimeSTAR LongSeq DNA Polymerase is a novel PCR enzyme with the highest level of specificity.
This product improves the PCR success rate for GC or AT rich sequences and long targets that are difficult to amplify with general PCR reagents due to the optimization of enzymes and buffers. Furthermore, its superior specificity allows for long-range multiplex PCR.
This product is 2X premix type that contains all components (enzyme, buffer, and dNTP Mixture, etc.) and does not freeze at -20℃, so it is possible to perform PCR by adding primers and templates without thawing.
This enzyme is designed for hot start PCR using the monoclonal antibody. Thus, it is possible to prevent non-specific amplification due to mispriming and/or formation of primer dimers before the PCR reaction.

<Features>
- High fidelity
- Exceptional specificity
- Capable of long-range multiplex PCR, which was challenging with conventional products
- Convenient 2X premix type

Storage: -20℃

Note: Gently mix well before use and centrifuge briefly.

Electrophoresis, Cloning, and Sequencing of Amplified Products:

(1) Electrophoresis of amplified products:
TAE Buffer is recommended for agarose gel electrophoreses of PCR products amplified using PrimeSTAR LongSeq DNA Polymerase. TBE Buffer may distort bands, particularly small products at the bottom of the gel.

(2) Termini of amplified products:
Most PCR products amplified with PrimeSTAR LongSeq DNA Polymerase have blunt-end termini. Accordingly, they can be cloned directly into blunt-end vectors.
PCR products amplified with primers designed for in-Fusion cloning can be cloned as is. If necessary, phosphorylate amplified products before cloning. In-Fusion® Snap Assembly Master Mix (Cat. #638947/638948/638949/638943/638944/638954/638955/638956) can be used for In-Fusion cloning. Use the Mighty Cloning Reagent Set (Blunt End) (Cat. #6027) for cloning into a blunt-end vector.
If you want to clone amplified products into T-vectors, dA addition to the 3′ end is needed.

(3) Restriction enzyme digestion:
Prior to performing restriction enzyme digestion of amplified PCR products, remove all traces of PrimeSTAR LongSeq DNA Polymerase from the reaction mixture by phenol/chloroform extraction or by using NucleoSpin Gel and PCR Clean-up (Cat. #740609.10/.50/.250)*. Particularly for 3′-protruding restriction enzymes such as *Pst* I, the 3′-protruding termini produced by these enzymes may be deleted by 3′ → 5′ exonuclease activity of PrimeSTAR LongSeq DNA Polymerase if residual polymerase remains present in the restriction digest reaction.

(4) Direct sequencing
Perform phenol/chloroform extraction of PCR products prior to direct sequencing to ensure inactivation of 3′ → 5′ exonuclease activity. Alternatively, NucleoSpin Gel and PCR Clean-up (Cat. #740609.10/.50/.250)* or NucleoSpin gDNA Clean-up (Cat.#740230.10/.50/.250)* may be used to purify DNA prior to sequencing.

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

General Composition of PCR Reaction Mixture (Total 50 μl):

PrimeSTAR LongSeq Premix (2X)	25 μl (final conc. 1X)
primer 1	10 pmol (final conc. 0.2 μM*1)
primer 2	10 pmol (final conc. 0.2 μM*1)
Template	See "Template" chapter
Sterile purified water	up to 50 μl

PCR Conditions:

94℃	1 min*2	
↓		
98℃	10 - 20 sec	30 - 40 cycles
55 - 67℃*3	15 sec	
68℃	20 - 30 sec/kb	
or		
98℃	10 - 20 sec	30 - 40 cycles
68℃	20 - 30 sec/kb	

*1 For multiplex PCR, it is recommended to prepare each primer to a final concentration of 0.2 μM.
*2 When amplifying a GC-rich region or a long target, perform initial denaturation at 94℃ for 1 min.
*3 Please set the annealing temperatures to at least 5℃ below the Tm value of the primers.

Note 1: Do not use inosine-containing primers with PrimeSTAR LongSeq DNA Polymerase.
Note 2: Ensure that template and primers do not contain excessive EDTA.
Note 3: TE buffer (10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA) or sterile purified water is recommended for the dilution of template and primers.

<Primer Design>
- Primers should ideally be approximately 35-mers with a Tm value of > 70℃.
- If the Tm value is below 70℃, consider using 3-step PCR with an annealing temperature at least 5℃ below the Tm for successful amplification.
- Especially for multiplex PCR, it is recommended to design primers so that the Tm values of each primer are approximately equivalent.
- Successful amplification can be achieved by using phosphorothioate-modified bases at the 3′ end of the primer.

Template:

Human genomic DNA	10 - 500 ng
E. coli genomic DNA	100 pg - 200 ng
Plasmid DNA	10 pg - 10 ng
cDNA	25 - 750 ng

PrimeSTAR is a registered trademark of Takara Bio Inc.
In-Fusion is a registered trademark of Takara Bio USA, 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.

v202503Da

PrimeSTAR® LongSeq DNA Polymerase

Code No. R055S　　容量：　1 ml（40 回反応分）

Code No. R055A　　容量：　1 ml × 5（200 回反応分）

● 製品説明

PrimeSTAR LongSeq DNA Polymerase は、世界最高クラスの高い特異性を持つ PCR 酵素である。
本製品は、酵素とバッファーの至適化により一般的な PCR 試薬では増幅が困難な配列 (GC rich、AT rich など) や長鎖のターゲットに対する PCR 増幅の成功率が向上している。さらに、その高い特異性により、長鎖増幅マルチプレックス PCR を行うことができる。
本製品は、全てのコンポーネント（酵素、バッファー、dNTP Mixture 等）が含まれている 2 × プレミックスタイプであり、－ 20℃で凍結しないため融解の手間がなく、直ちにプライマーと鋳型を加えて PCR を行うことができる。
なお、本製品に含まれる酵素は常温下での 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添加したホットスタート用 PCR 酵素である。

＜特長＞
・高い正確性
・非常に高い特異性
・従来品では困難であった長鎖のマルチプレックス増幅が可能
・簡便なプレミックス試薬

● 保存　－ 20℃

注）使用前には激しい攪拌を避け、転倒混和後スピンダウンしてください。

● 増幅産物の電気泳動、クローニング、シーケンスについて

(1) 増幅産物の電気泳動
本酵素を用いて増幅した PCR 産物を電気泳動する場合は、TAE Buffer の使用を推奨する。TBE Buffer を使用すると、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。

(2) 増幅産物のクローニング
本酵素を用いて増幅した PCR 産物のほとんどは平滑末端になっている。したがって、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。クローニングする場合は、In-Fusion クローニングもしくは平滑末端ベクターへのクローニングを推奨する。In-Fusion クローニングには In-Fusion Snap Assembly Master Mix シリーズ（製品コード 638947/638948/638949/638943/638944/638954/638955/638956）などを使用することができる。平滑末端ベクターへのクローニングには Mighty Cloning Reagent Set (Blunt End)（製品コード 6027）を使用することができる。
T-vector にクローニングしたい場合には、3′ 末端への dA 付加反応を行う必要があり、Mighty TA-cloning Reagent Set for PrimeSTAR（製品コード 6019）の使用を推奨する。

(3) 制限酵素処理を行う場合
増幅産物を制限酵素処理する場合は、フェノール／クロロホルム処理、NucleoSpin Gel and PCR Clean-up（製品コード 740609.10/.50/.250）を用いる PCR clean-up などでタンパク質除去操作を行う。特に 3′- 突出型の制限酵素（例えば *Pst* I など）の場合、本酵素の 3′ → 5′ exonuclease 活性が残存していると、制限酵素処理中に 3′- 突出末端が削られる。

(4) ダイレクトシーケンスを行う場合
本酵素は 3′ → 5′ exonuclease 活性を有するため、ダイレクトシーケンスを行う前にフェノール／クロロホルム処理、または NucleoSpin Gel and PCR Clean-up（製品コード 740609.10/.50/.250）、NucleoSpin gDNA Clean-up（製品コード 740230.10/.50/.250）などを用いたタンパク質除去操作を推奨する。

● 一般的な PCR 反応液量（Total 50 μl）

PrimeSTAR LongSeq Premix（2×）	25 μl（final conc. 1×）
primer 1	10 pmol（final conc. 0.2 μM ＊1）
primer 2	10 pmol（final conc. 0.2 μM ＊1）
Template	「●推奨鋳型量」の項を参照
滅菌精製水	up to 50 μl

● PCR 条件

94℃	1 min. ＊2	
↓		
98℃	10～20 sec.	30～40 cycles
55～67℃ ＊3	15 sec.	
68℃	20～30 sec./kb	
もしくは		
98℃	10～20 sec.	30～40 cycles
68℃	20～30 sec./kb	

＊1：マルチプレックスを実施する場合には各プライマーの終濃度が 0.2 μM となるように調製することを推奨する。
＊2：増幅領域が GC rich の場合や長鎖ターゲットの増幅を行う場合には、94℃ 1 min. で初期変性を行うことを推奨する。
＊3：アニーリングの温度はプライマーの Tm 値より 5℃以上下げた温度を設定すること。

注 1）イノシンを含むプライマーの使用は避けること。
注 2）過剰な EDTA の持ち込みは避けること。
注 3）鋳型やプライマーの希釈には、TE buffer（10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA）または滅菌精製水を推奨する。

＜ PCR 条件の選択＞
・プライマーは可能な限り、35 mer 程度（Tm 値 ＞ 70℃）を強く推奨する。
・Tm 値が 70℃以下の場合はプライマーの Tm 値より 5℃以上下げたアニーリング温度を用いた 3 Step PCR により、良好な増幅が得られることがある。
・マルチプレックスでは、プライマーの Tm 値を合わせるように設計することを推奨する。
・プライマーの 3′ 末端塩基にホスホロチオエート修飾塩基を用いることで良好な増幅が得られることがある。

● 推奨鋳型量

ヒトゲノム DNA	10～500 ng
大腸菌ゲノム DNA	100 pg～200 ng
プラスミド DNA	10 pg～10 ng
cDNA	25～750 ng

● 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。

v202503Da

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