

Product Information

Taq DNA Polymerase (*Thermus aquaticus* 由来)

Escherichia coli (大腸菌) で発現させた組換え体

Catalog Number D1806

保存温度 -20 °C

TECHNICAL BULLETIN (使用説明書)

イントロダクション

Taq DNA Polymerase は、好熱性細菌 *Thermus aquaticus* に由来する熱安定酵素です。本酵素は、大腸菌で発現させた組換え体です。95 °C まで繰り返し加熱しても、著しい活性の減少なしに耐えることができます。本酵素は、SDS-PAGE により約 94 kDa に見られ、検出可能なエンドヌクレアーゼまたはエキソヌクレアーゼ活性は認められません。本酵素は、5'→3' DNA ポリメラーゼ活性および 5'→3' エキソヌクレアーゼ活性を示します。Taq DNA Polymerase のロットごとに、PCR 増幅および二本鎖塩基配列決定について検査されています。本酵素は 5 units/μL で供給され、最適化された 10x 反応バッファーが付属しています。

ユニットの定義: 1 unit は、74 °Cにおいて 30 分で酸不溶性 DNA に 10 nm の総デオキシリボヌクレオシドミリ核酸を取り込みます。

付属する試薬

- Taq DNA Polymerase、製品番号 D6677
pH 8.0 の 20 mM トリス HCl、100 mM KCl、0.1 mM EDTA、1 mM DTT、安定剤、50% グリセロール中に 5 units/μL
- 10x PCR バッファー、製品番号 P2192
pH 8.3 の 100 mM トリス HCl、500 mM KCl、15 mM MgCl₂ および 0.01% ゼラチン

本製品の他に必要な試薬

- 10 mM dATP、製品番号 D6920
- 10 mM dCTP、製品番号 D7045
- 10 mM dGTP、製品番号 D7170
- 10 mM TTP、製品番号 T7791
または
- 10 mM dATP、10 mM dCTP、10 mM dGTP、10 mM TTP を含有するデオキシヌクレオチドミックス、製品番号 D7295
- 水、PCR グレード、製品番号 W1754
- ミネラルオイル、製品番号 M8662 (オプション)
- サーマルサイクラー
- プライマー
- 増幅させる DNA
- 0.2 mL または 0.5 mL の薄壁 PCR チューブ、
製品番号 P3114 および P3364

注意事項と免責事項

本製品は試験研究用のみを目的として販売されています。医薬品、家庭用その他試験研究以外の用途には使用できません。危険性や安全な取り扱いに関しては化学物質安全データシート (MSDS) をご覧ください。

保存方法

-20 °C で保存してください。

増幅の手順

Taq DNA Polymerase、テンプレート DNA、プライマーおよび MgCl₂ の濃度の最適条件は、使用するシステムによって異なります。個々の成分に対して最適条件を判定することが必要です。このことは Taq DNA Polymerase、サイクリングパラメータおよび MgCl₂ の濃度については特に当てはまります。最適の効率を決定するために本酵素および MgCl₂ を滴定することが推奨されます。PCR 最適化キット (製品番号 OPT2) には、PCR 産物の特異性、フィデリティー (正確さ) および収量を最適化するための様々なバッファーおよび補助剤が入っています。

1. 下記の順序で、0.2 mL または 0.5 mL のマイクロチューブに下記の試薬を加えてください。

量	組成	最終濃度
w μL	水	
5 μL	10 x PCR バッファー	1x
1 μL*	10 mM dATP	200 μM
1 μL*	10 mM dCTP	200 μM
1 μL*	10 mM dGTP	200 μM
1 μL*	10 mM TTP	200 μM
x μL	フォワードプライマー (一般的に 15~30 base)	0.1~0.5 μM
y μL	リバースプライマー (一般的に 15~30 base)	0.1~0.5 μM
0.5 μL	Taq DNA Polymerase	0.05 units/μL
z μL	テンプレート DNA (一般的に 10 ng)	200 pg/μL
50 μL	反応液総量	

*注意: 個々のヌクレオチド (合計 4 μL) は、1 μL の Deoxynucleotide Mix (製品番号 D7295) に置き換えること

ができます。

2. 穏やかにボルテックスして混合し、軽く遠心してチューブの底に全ての溶液を集めます。
3. 加温式の蓋のないサーマルサイクラーを使用する場合、蒸発を防ぐために各チューブの上部に 50 µL のミネラルオイルを加えてください。
4. 増幅のパラメータは、使用するプライマーおよびサーマルサイクラーによって異なります。個々のプライマー、テンプレートおよびサーマルサイクラーごとにシステムを最適化する必要があります。

典型的なサイクリングパラメータ

25~30 サイクルの増幅が推奨されます。		
テンプレートの変性	94 °C	1 分
プライマーのアニール	55 °C	2 分
伸長	72 °C	3 分

5. 増幅した DNA は、アガロースゲル電気泳動法およびその後の臭化工チジウム染色によって評価することができます。ミネラルオイルの重層は、1 回のクロロホルム抽出 (1:1) により除去でき、水相を回復させることができます。

参考文献

1. Cheng, S., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91, 5695-5699 (1994).
2. Chou, Q., Nucleic Acids Res. 20, 4371 (1992).
3. Innis, M.A., et al. (Eds.) PCR Strategies, Academic Press, New York (1995). 製品番号 Z364452.
4. Innis, M., et al. (Eds.) PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Academic Press, San Diego, California (1990). 製品番号 P8177.
5. Innis, M., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85, 9436-9440 (1988).
6. Newton, C.R. (Ed.) PCR: Essential Data, John Wiley & Sons, New York (1995).
7. Olive, D., et al., J. Clin. Microbiol. USA 27, 1238 (1989).
8. Paabo, S., et al., Nucleic Acids Res. 16, 9775-9787 (1988).
9. Saiki, R., PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification, Stockton, New York (1989).
10. Sambrook, J., et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Third Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (2000) 製品番号 M8265
11. Sarkar, G., et al., Nucleic Acids Res. 18, 7465 (1990).
12. Winship, P.R., et al., Nucleic Acids Res. 17, 1266 (1989).

Notice To Purchaser: Disclaimer Of License

No license is conveyed with the purchase of this product under any of US Patents Nos. 5,210,015, 5,487,972, 5,804,375, 5,994,056, 6,171,785, 6,214,979, 5,538,848, 5,723,591, 5,876,930, 6,030,787, and 6,258,569, and corresponding patents outside the United States, or any other patents or patent applications, relating to the 5' Nuclease and dsDNA-Binding Dye Processes. For further information contact the Director of Licensing, Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, USA.

AF,CR,PHC 03/10-1

Sigma ブランド製品は Sigma-Aldrich, Inc.を通じて販売されています。

Sigma-Aldrich, Inc.は同社製品がこの文書およびその他の Sigma-Aldrich 発行文書に含まれる情報に合致していることを保証します。お客様の個別の用途と製品の適合性についてはお客様にてご判断ください。収載の品目、製品情報、価格などは予告なく変更される場合がございます。納品伝票または同梱の内容明細書の裏面をご覧ください。