

Product Information

Taq DNA Polymerase (*Thermus aquaticus* 由来)組換え体、*E. coli* (大腸菌) で発現MgCl₂ 不含の 10x 反応バッファー付属

製品番号 D4545

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、*E. coli* (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/mL で供給され、塩化マグネシウムを含まない最適化された 10x 反応バッファーが付属しています。最適な効率を得るために、塩化マグネシウムの滴定を可能にする塩化マグネシウムのチューブが別に含まれています。

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 nmol の総デオキシリボヌクレオシド三リン酸を取り込みます。

付属する試薬

- Taq DNA Polymerase、製品番号 D6677
20 mM トリス HCl, pH 8.0, 100 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 安定剤, 0.5% IGEPAL®CA-630, 50% グリセロール中に 5 units/μL
- MgCl₂ 不含 10x 反応バッファー、製品番号 P2317
100 mM トリス HCl, pH 8.3, 500 mM KCl
- 塩化マグネシウム溶液, 25 mM、製品番号 M8787

他にご用意いただく試薬

- 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
- 10 mM dATP、dCTP、dGTP、TTP を含有するデオキシヌクレオチド混合物、製品番号 D7295
- 水、PCR 試薬、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

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。

増幅手順

Taq DNA ポリメラーゼ、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と思われます。このことは Taq DNA ポリメラーゼ、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 生成物の特異性、適合度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、200 μL または 500 μL のマイクロチューブに下記の試薬を加えてください。

| 量 | 構成 | 最終濃度 |
|--------|------------------------------|---------------|
| - μL | 水 | - |
| 5 μL | 10x PCR バッファー | 1x |
| - μL | 25 mM MgCl ₂ | 特に 1.5~3.5 mM |
| 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 |
| - μL | フォワードプライマー (一般的に 15~30 base) | 0.1~0.5 μM |
| - 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 |
| - μL | テンプレート DNA (一般的に 10 ng) | 200 pg/μL |
| 50 μL | 最終容量 | |

*注意: 個々のヌクレオチド (合計 4 μ L) は、1 μ L の Deoxynucleotide Mix (製品番号 D7295) と置き換えることができます。

2. ボルテックスで穏やかに混合して、短時間遠心し、チューブの底に全ての成分を集めます。
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 100 μ L 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

| | | |
|-----------------------|-------|-----|
| 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 |
| 25~30 サイクルの増幅が推奨されます。 | | |

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エ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。

†PCR 法は、Hoffman-LaRoche 社が所有する特許によって保護されています。

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). 製品番号 Z364916.
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**(24):7465 (1990).
12. Winship, P.R., *et al.*, *Nucleic Acids Res.* **17**:1266 (1989).

ご購入者への通知: 限定ライセンス

Roche Molecular Systems および F. Hoffmann-La Roche Ltd (Roche) が所有する米国特許 4,683,202、4,683,195、4,965,188 および 5,075,216、またはこれら当該の海外特許下のライセンスには、前払い金事項およびランニング・ロイヤリティ事項が存在します。本製品の購入価格には、ランニング・ロイヤリティ事項の下で限定譲渡不可権が含まれ、その使用は、本製品のこの分量を、単に購入者の研究開発活動のためのポリメラーゼ連鎖反応法 (PCR) および前記特許に記載の関連の工程、ならびにその使用が前払い金事項に含まれるサーマルサイクラーと本製品を併用する際の、購入者の研究開発活動を実施するための使用にのみ限定されています。前払い金事項に対する権利は、PCR 工程でこの製品を使用するための完全なライセンスを持つために、エンドユーザーによって入手される必要があります。前払い金事項の下でのこれらの権利は、Applied Biosystems から購入するか、正規のサーマルサイクラーを購入することによって得ることができます。制限なく、手数料またはその他の商業的報酬を得るために購入者の行為の結果を報告することを含む、PCR を使用するいかなる商業サービスを実施または提供する権利もここに含意または禁反言によって与えられません。PCR 工程実施のライセンスに関する詳細は、Director of Licensing at Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404 または the Licensing Department at Roche Molecular Systems, Inc., 1145 Atlantic Avenue, Alameda, California 94501 に連絡を取ることで得ることができます。

IGEPAL は、Rhone-Poulenc AG Co の登録商標です。

TR,PHC 02/07-1

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。