

高正確性・高速PCR酵素

Go-to DNA Polymerase

Code No.	包装単位	希望納入価格(税別)
313-08661	125 units (50回用)*	10,000 円
319-08663	500 units (200回用)*	25,000 円

* 50 μ l の反応系で使用した場合の回数です。

製品内容 (保存: -20°C)

- Go-to DNA Polymerase (2.5 U/ μ l)
- 10 \times Go-to Buffer
- dNTPs Mixture (2.5 mM each)

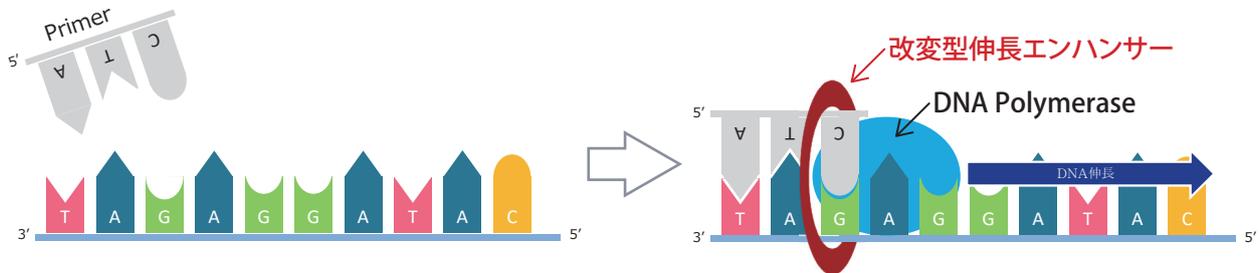
本品は、*Pyrococcus* sp.由来の α 型DNAポリメラーゼと改変型伸長エンハンサーを混合したPCR酵素です。ポリメラーゼ反応において誤って取り込まれたヌクレオチドを取り除くことができる 3' \rightarrow 5' エキソヌクレアーゼ活性を有しているため、クローニングなど正確性の高いDNAフラグメントを必要する場合に最適です。

PCR酵素	伸長速度	校正活性	3'末端
Go-to DNA Polymerase	とても速い	あり	平滑
α 型酵素 (<i>Pfu</i> , <i>Pho</i>)	遅い	あり	平滑
Pol I 型酵素 (<i>Taq</i>)	速い	なし	dA付加

さらに改変型伸長エンハンサーによって、 α 型DNAポリメラーゼの欠点である伸長反応時間や増幅効率の低さを改善しています。本品は、高正確性を保持したまま優れた伸長性を兼ね備えた“信頼性の高い (Go-to)”PCR酵素です。

特長

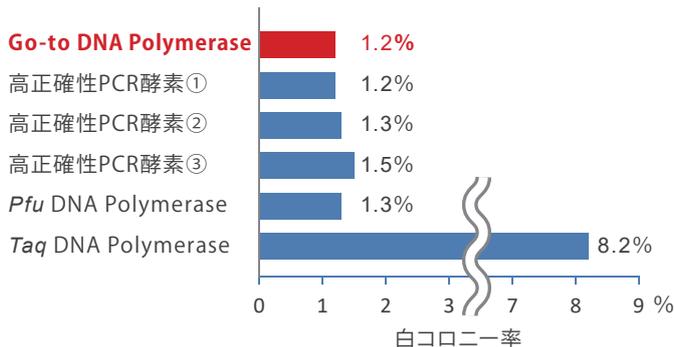
■ 改変型伸長エンハンサーにより、伸長速度が速く、DNA増幅効率が良い。



改変型伸長エンハンサーは、鑄型DNAとプライマーを外れないようにする留め金の機能をもつリング状のタンパク質複合体で、DNAポリメラーゼの伸長活性を著しく向上させます。

■ 校正活性を有し、正確性が高い。

<各社PCR酵素のエラー率の比較>



lacZ 遺伝子を持つ pUC19 DNA の全長を各社PCR酵素で増幅し、Self-ligation操作で環状化したのち、大腸菌を形質転換した。

結果、Go-to DNA Polymerase は他社の高正確性酵素や同じ α 型の *Pfu* DNA Polymerase と同程度の白コロニー率を示した。

(青色コロニーは機能的な *lacZ* 遺伝子領域の増幅を示し、白色コロニーは欠損や配列エラーを含む非機能的な *lacZ* 遺伝子が増幅されたことを示す。)

実験例1：本品と各社高正確性PCR酵素との増幅効率比較

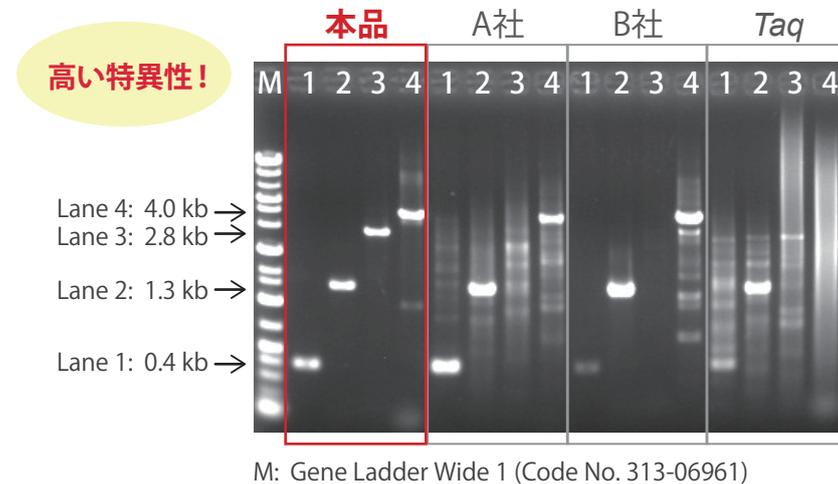
ヒトゲノムDNAを鋳型に各社推奨PCR条件に従って同じサイクル数で増幅した。

増幅鎖長 0.4 kb、1.3 kb、2.8 kb、4 kb (β -globin遺伝子上の様々なサイズを増幅)

使用機種 2720 Thermal Cycler (Applied Biosystem)

比較製品 Go-to DNA Polymerase (本品)、A社高正確性高速PCR酵素、B社高正確性高速PCR酵素、Taq DNA Polymerase

PCR条件 各社推奨反応条件で使用 (50 μ l 反応系、30サイクル)



Go-to DNA Polymerase 推奨反応条件

反応液組成 (50 μ l 反応系)

genome DNA	50 ng
10 \times Go-to Buffer	5 μ l
dNTPs Mixture (2.5 mM each)	0.2 mM
Primers (10 μ M each)	0.2 μ M
Go-to DNA Polymerase (2.5 U/ μ l)	1 μ l

PCR条件

95 $^{\circ}$ C	2分	} \times 30 サイクル
95 $^{\circ}$ C	20秒	
55 $^{\circ}$ C	20秒	
72 $^{\circ}$ C	15秒/kb	
72 $^{\circ}$ C	3分	

結果 Go-to DNA Polymerase は、高い特異性で効率よく増幅できた。

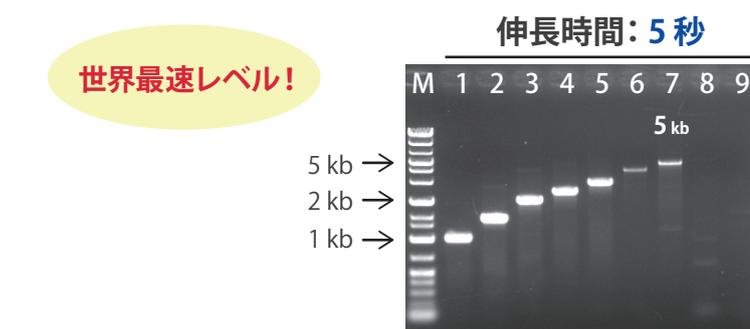
実験例2：伸長速度の検討

ラムダDNAを鋳型に、伸長時間を5秒にして各鎖長の増幅を行った。

増幅鎖長 1.0 kb、1.5 kb、2.0 kb、2.5 kb、3.0 kb、4.0 kb、5.0 kb、5.5 kb、6.5 kb

使用機種 2720 Thermal Cycler (Applied Biosystem)

PCR条件 50 μ l 反応系 (鋳型ラムダDNA量 5 ng)、伸長時間5秒



反応液組成 (50 μ l 反応系)

ラムダ DNA	5 ng
10 \times Go-to Buffer	5 μ l
dNTPs Mixture (2.5 mM each)	0.2 mM
Primers (10 μ M each)	0.2 μ M
Go-to DNA Polymerase (2.5 U/ μ l)	1 μ l

PCR条件

95 $^{\circ}$ C	2分	} \times 30 サイクル
95 $^{\circ}$ C	20秒	
55 $^{\circ}$ C	20秒	
72 $^{\circ}$ C	5秒	
72 $^{\circ}$ C	3分	

Lane 1~9: 増幅鎖長 1 ~ 6.5 kb

M: Gene Ladder Wide 1 (Code No. 313-06961)

結果 Go-to DNA Polymerase は ラムダDNAを鋳型とした場合、> 1 kb / 5秒で増幅を確認できた。

製造元 **株式会社ニッポンジーン**

〒930-0834 富山市問屋町二丁目7番18号
TEL: 076-451-6548 FAX: 076-451-6547
URL: <http://www.nippongene.com>

販売元 **富士フイルム 和光純薬株式会社**

本社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL: 06-6203-3741 (代表)
東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL: 03-3270-8571 (代表)
フリーダイヤル 0120-052-099 フリーファックス 0120-052-806