

TaKaRa Ex Premier™ DNA Polymerase Dye plus

Code No. RR371A Size: 1 ml x 5
(for 200 PCR reactions)

Description:

TaKaRa Ex Premier DNA Polymerase Dye plus is a novel PCR enzyme based on DNA polymerase derived from *Thermococcus* sp. This product improves the PCR success rate for GC or AT rich sequences, long targets, and crude samples that are difficult to amplify with general PCR reagents due to the optimization of enzymes and buffers. Furthermore, it has high-fidelity ability of α -type DNA polymerases and can be used for cloning.

This product is 2X premix type that contains all components (enzyme, buffer, dNTP Mixture, etc.) and does not freeze at -20°C, so it is possible to perform PCR by adding primers and templates without thawing. In addition, this product also contains a gel loading dye (green) that is convenient for electrophoresis, therefore the PCR products amplified with this master mix can be loaded directly onto an agarose gel electrophoresis.

This enzyme is designed for hot start PCR using the monoclonal antibody, thus it is possible to prevent non-specific amplification due to mis-priming and/or formation of primer dimer before PCR reaction.

Storage: -20°C

Note: Gently mix well before use and centrifuge briefly.

Composition of the PCR reaction mixture (total 50 μ l):

TaKaRa Ex Premier DNA Polymerase Dye plus (2X)	25 μ l (final conc. 1X)
primer 1	10 - 15 pmol (final conc. 0.2 - 0.3 μ M)
primer 2	10 - 15 pmol (final conc. 0.2 - 0.3 μ M)
Template	See "Template" chapter
Sterile purified water	up to 50 μ l

PCR conditions:

94°C	1 min ^{*1}	
↓		
98°C	10 sec	} 30 cycles
55 - 60°C	15 sec	
68°C	30 sec/kb ^{*2}	

[For GC-rich targets or amplification of products \geq 10 kb in length]

94°C	1 min ^{*1}	
↓		
98°C	10 sec	} 30 cycles
68°C	30 sec/kb ^{*2}	

*1 When amplifying a GC-rich region or a long target, perform initial denaturation at 94°C for 1 min.

*2 When amplifying from crude sample, set the extension time to 1 min/kb.

Note 1: Do not use inosine-containing primers with TaKaRa Ex Premier DNA Polymerase Dye plus.

Note 2: Please set the annealing temperatures according to the T_m value of the primers.

Template:

Recommended quantities of template DNA (for 50 μ l reaction):

		(for long PCR products)
Human genomic DNA	5 - 500 ng	(100 - 500 ng)
<i>E. coli</i> genomic DNA	100 pg - 200 ng	(10 - 200 ng)
Plasmid DNA	10 pg - 10 ng	(1 - 10 ng)
cDNA	25 - 750 ng	(250 - 750 ng)

Note: Do not use templates containing uracil, such as bisulfite-treated DNA.

Electrophoresis of amplified products:

TAE Buffer is recommended for agarose gel electrophoresis of amplified products that are obtained using TaKaRa Ex Premier DNA Polymerase Dye plus. The vivid green dye separates into blue and yellow dye fronts when the PCR product is run on an agarose gel.

Note: TBE Buffer may result in DNA band patterns that are enlarged at the bottom of the gel.

Termini of amplified products:

Most PCR products amplified with TaKaRa Ex Premier DNA Polymerase Dye plus have blunt-end termini.

Use the Mighty Cloning Reagent Set (Blunt End) (Cat. #6027) for cloning into a blunt-end vector.

In-Fusion® cloning with In-Fusion Snap Assembly Master Mix series (Cat. #638947/638948/638949/638943/638944/638954/638955/638956) also can be recommended.

If you want to clone amplified products into T-vectors, dA addition to the 3' end is needed.

Restriction enzyme digestion:

Prior to performing restriction enzyme digestion of amplified PCR products, remove all traces of TaKaRa Ex Premier DNA Polymerase Dye plus from the reaction mixture by phenol/chloroform extraction or by using the NucleoSpin Gel and PCR Clean-Up (Cat. #740609.10/.50/.250) kit.

A 3'-overhang produced with restriction enzyme, such as *Pst* I, may be removed by the 3' \rightarrow 5' exonuclease activity of TaKaRa Ex Premier DNA Polymerase Dye plus if residual polymerase remains in the restriction enzyme reaction.

cDNA template:

The cDNA products synthesized by some reverse transcription reagents cannot be recommended as the template since the PCR solution may aggregate.

Please use the PrimeScript™ II 1st strand cDNA Synthesis Kit (Cat. #6210A/B) and PrimeScript IV 1st strand cDNA Synthesis Mix (Cat. #6215A/B) for cDNA synthesis.

In-Fusion is a registered trademark of Takara Bio USA, Inc.
Ex Premier and PrimeScript are trademarks 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 6972 or 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.

TaKaRa Ex Premier™ DNA Polymerase Dye plus

Code No. RR371A 容量： 1 ml × 5
(200回 PCR 反応分)

● 製品説明

TaKaRa Ex Premier DNA Polymerase Dye plus は、*Thermococcus* 属古細菌由来の DNA polymerase をベースに開発した新規 PCR 酵素である。本製品は、酵素とバッファの至適化により一般的な PCR 試薬では増幅が困難な難増幅配列 (GC rich, AT rich など) や長鎖のターゲット、クルードサンプルに対する PCR 増幅の成功率が向上している。さらに、優れた校正機能を有する α 型ポリメラーゼ特有の高い正確性も有しており、クローニングにも使用できる。本製品は、全てのコンポーネント (酵素、バッファ、dNTP Mixture 等) が含まれている 2 × プレミックスタンプであり、-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 PCR を行うことができる。さらに、本製品は、電気泳動時に便利な色素マーカー (緑色：青色と黄色の混合色素) を含むため、反応液を直接電気泳動解析に供することができる。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。

● 保存

-20℃ 保存

注) 使用前には激しい攪拌を避け、転倒混和後スピンドウンしてください。

● 一般的な PCR 反応液組成 (Total 50 μ l)

TaKaRa Ex Premier DNA Polymerase Dye plus (2 ×) 25 μ l (final conc. 1 ×)
primer 1 10 ~ 15 pmol (final conc. 0.2 ~ 0.3 μ M)
primer 2 10 ~ 15 pmol (final conc. 0.2 ~ 0.3 μ M)
Template 「●推奨鋳型量」の章を参照
滅菌精製水 up to 50 μ l

● PCR 条件

94℃ 1 min*1
↓
98℃ 10 sec
55 - 60℃ 15 sec
68℃ 30 sec/kb*2 } 30 cycles

[GC rich な鋳型や 10 kb 以上の長鎖の場合]

94℃ 1 min*1
↓
98℃ 10 sec
68℃ 30 sec/kb*2 } 30 cycles

* 1 : 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分 で初期変性を行うことを推奨する。

* 2 : クルードサンプルから増幅する場合は、伸長時間を 1min./kb に設定する。

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) アニーリング温度はプライマーの Tm 値に合わせて設定すること。

● 推奨鋳型量

ヒトゲノム DNA	5 ~ 500 ng	(長鎖増幅の場合) (100 ~ 500 ng)
大腸菌ゲノム DNA	100 pg ~ 200 ng	(10 ~ 200 ng)
プラスミド DNA	10 pg ~ 10 ng	(1 ~ 10 ng)
cDNA	25 ~ 750 ng	(250 ~ 750 ng)

※ バイサルファイト処理した DNA などのウラシルを含む鋳型は使用できない。

● 増幅産物の電気泳動

TaKaRa Ex Premier DNA Polymerase Dye plus を用いて増幅した PCR 産物は直接ゲルにアプライ可能である。また、電気泳動には 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。

● PCR 産物について：増幅産物の末端形状

TaKaRa Ex Premier DNA Polymerase Dye plus を用いて増幅した PCR 産物のほとんどは、酵素の校正活性により平滑末端になっている。したがって、そのまま TA クローニングはできない。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。

● 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、または NucleoSpin Gel and PCR Clean-up (製品コード 740609.10/50/250) などを用いて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、TaKaRa Ex Premier DNA Polymerase Dye plus 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。

● cDNA を鋳型とする場合

cDNA 合成反応液の成分により、PCR 反応液が凝集する場合がある。cDNA 合成には PrimeScript II 1st strand cDNA Synthesis Kit (製品コード 6210A/B)、PrimeScript IV 1st strand cDNA Synthesis Mix (製品コード 6215A/B) を推奨する。

● 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。