

# KAPATaq<sup>®</sup> EXtra PCR Kit

## 評価方法ご案内

\* 製品の詳細は取扱説明書を十分にご確認ください。

**1** 現在ご使用中の製品で既に増幅が確認できているプライマーセットとテンプレートを  
ご用意ください。

**2** 以下の「2種類の反応条件」で、それぞれPCRを実施して比較・ご評価ください。

**A** 現在ご使用中の製品のプログラム条件そのまま（反応組成は下記をご参照ください。）  
比較として必ず既存の製品も同時にPCRを実行してください。

**B** KAPATaq<sup>®</sup> EXtra PCRキットの推奨反応組成・プログラム条件（下記をご参照ください。）  
比較として必ず既存の製品も同時にPCRを実行してください。

（ご注意）KAPATaq<sup>®</sup> EXtra PCRキットの反応バッファーには、MgCl<sub>2</sub>が含まれておりません。  
別途、添付の25mM MgCl<sub>2</sub>溶液の添加が必要ですので、ご注意ください。

**3** 増幅後のバンドを比較する場合、必ず同じゲルに電気泳動し、比較してください。

### KAPATaq<sup>®</sup> EXtra PCR Kit 推奨条件

#### ● PCR反応組成（基本条件）

反応組成 (50μl反応の場合)	(最終濃度)
KAPATaq EXtra DNA Polymerase (5U/μl)	0.25μl <sup>*1</sup>
5xKAPATaq EXtra Buffer (Mg <sup>2+</sup> free)	10μl
25mM MgCl <sub>2</sub> (必ず添加ください)	{ 3.5μl (1.75mM) 5.0μl (2.5mM) <sup>**2</sup>
dNTP Mix (10mM each)	1.5μl (各0.3mM)
Forward Primer (10μM)	2.5μl (0.5μM)
Reverse Primer (10μM)	2.5μl (0.5μM)
Template DNA	(必要量)
PCR grade Water	up to 50μl

\*1: 増幅サイズ15kb~の場合0.5μl添加

\*2: マグネシウム濃度は2条件お試しください。

#### ● プログラム（基本条件）

##### 増幅サイズ ~8kbの場合

Initial Denaturation	94°C	2min	} 25サイクル**
Denaturation	94°C	15sec*	
Annealing	Tm-5°C	15sec	
Extension	72°C**	1min./kb	
Final Extension	72°C	1min./kb	

\*Fast装置では25sec

\*\*テンプレートが微量な場合や、より明確なバンドが必要な場合は、68°Cで35サイクルに設定してください。

\*5kb以上の増幅の場合は、以下のプログラムをお試しください。（※取扱説明書には掲載されておりません）

##### 増幅サイズ 5~18kbの場合

Initial Denaturation	94°C	2min	} 35サイクル
Denaturation	94°C	15sec*	
Annealing	Tm-5°C	15sec	
Extension	68°C	1min./kb	
Final Extension	72°C	1min./kb	

\*Fast装置では25sec

##### 増幅サイズ 15kb~の場合

Initial Denaturation	94°C	2min	} 10サイクル
Denaturation	94°C	15sec*	
Annealing	Tm-5°C	15sec	
Extension	68°C	1min./kb	
Denaturation	94°C	15sec*	
Annealing	Tm-5°C	15sec	
Extension	68°C	1min./kb**	
Final Extension	72°C	2min./kb	

\*Fast装置では25sec \*\*1サイクルごとに20sec増やす

**Genetics** 日本ジェネティクス株式会社 <http://www.n-genetics.com>