

# KAPATaq™ EXtra DNA ポリメラーゼ



## クイックガイド

Cat.No	Kit Size
<b>KK3009</b>	<b>250units</b>
<b>KK3008</b>	<b>50units</b>

### 内容

- KAPATaq EXtraDNAポリメラーゼ (5U/μl)
- 5×KAPATaq EXtraバッファー (Mg<sup>2+</sup>を含んでません)
- 25mM MgCl<sub>2</sub>
- dNTP Mixture (10mM)

保存  
-20℃

## ■ 製品説明

KAPATaq EXtra PCRシステムは、“Taq DNAポリメラーゼ”と“校正能力を持つarchaeal由来の(タイプB) DNAポリメラーゼをベースとしたエンジニア酵素”のブレンド酵素です。この2酵素のシステムにより、PCRがかりにくいケース、ロングレンジ、感度を要求されるPCR反応をサポートできます。

両酵素共に5'→3'ポリメラーゼ活性があるだけでなく、Taq は5'→3'エクソヌクレアーゼ活性、タイプBポリメラーゼは3'→5'エクソヌクレアーゼ活性(ブルーフリーディング活性)を持っています。

KAPATaq EXtraは従来のTaq DNAポリメラーゼと比べて、低いエラー率でのPCRを実現できます。

## ■ アプリケーション

KAPATaq EXtra PCRシステムは以下の用途に適しています。

- 長いサイズの増幅やテンプレートDNAが微量の場合のPCR
- 標準的な短い~通常の範囲のPCR
- TAクローニング (PCR産物は3'末端がA突出末端となります)

## ■ KAPATaq EXtraのPCRプロトコール

### ■ 基本的なPCR反応液組成 (Total 50μl)

- 標準的なターゲット (<8kb) またはテンプレートDNA量が多い場合

反応組成 (50μl反応の場合)		(最終濃度)
KAPATaq EXtra DNAポリメラーゼ (5U/μl)	0.25 μl *1	1.25U/50μl
5xKAPATaq EXtraバッファー (Mg <sup>2+</sup> free)	10 μl	
25mM MgCl <sub>2</sub> (必ず添加してください)	{ 3.5 μl 5.0 μl	{ (1.75mM) (2.5mM) *2
dNTP Mix (10mM each)	1.5 μl	(各0.3mM)
Forward Primer (10 μM)	2.5 μl	(0.5 μM)
Reverse Primer (10 μM)	2.5 μl	(0.5 μM)
Template DNA		<500ng
PCR grade Water	up to 50 μl	

\*1: 増幅サイズ15kb~の場合0.5 μl添加

\*2: マグネシウム濃度は2条件お試しください。

### ■ PCR条件

サイクルステップ/増幅サイズ	~8kbの場合
Initial Denaturation	94℃ 2min
Denaturation	94℃ 15sec*
Annealing	Tm-5℃ 15sec
Extension	72℃** 1min/kb
Final Extension	72℃ 1min/kb

} 25\*\*サイクル

\* 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℃で35サイクルに設定してください。

- 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。



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

本社: 〒112-0004 東京都文京区後楽1丁目4番14号 後楽森ビル18F

Tel. 03 (3813) 0961 Fax. 03 (3813) 0962

西日本営業所: 〒604-8277 京都府京都市中京区西洞院通御池下ル565番地 ラフィーネ御池3F

Tel. 075 (257) 5421 Fax. 075 (257) 5422

## Quick Reference Guide

Product code	Kit size
<b>KK3008</b>	<b>50 units</b>
<b>KK3009</b>	<b>250 units</b>

### Kit Components

- 5 U/μl KAPATaq EXtra DNA Polymerase
- 5x KAPATaq EXtra Buffer
- 25 mM MgCl<sub>2</sub> solution
- KAPA dNTP Mix (10mM each)

### Storage

Store all components at -20 °C.

## Production Description

The KAPATaq EXtra PCR system is a blend of *Taq* DNA polymerase and a modified archaeal (Type B) DNA polymerase possessing proofreading capability. This two-enzyme system is designed specifically to support robust, long range, and sensitive PCR. The KAPATaq EXtra system polymerizes DNA from a primer annealed to a DNA template in the presence of deoxyribonucleotide triphosphates. Both enzymes possess 5'-3' polymerase activity, but only *Taq* possesses 5'-3' exonuclease activity and only the Type B polymerase possesses 3'-5' exonuclease (proofreading) activity.

KAPATaq EXtra displays higher fidelity than *Taq* polymerase.

KAPAHifi™ DNA Polymerase is recommended for shorter targets where higher fidelity is required.

## Applications

The KAPATaq EXtra PCR system is suited for:

- PCR amplification of long targets and/or PCR using low concentrations of template DNA
- Standard short- and mid-range PCR amplification
- Production of PCR products to be used for ligation into 3'-T-overhang cloning vectors

## KAPATaq EXtra PCR Protocols

### Standard PCR Protocol for short targets (up to 8 kb) and/or high concentrations of template DNA

Typically, the PCR reaction setup might consist of:

	Final concentration	50μl rxn
PCR grade water up to 50μl		As required
5x KAPATaq EXtra Buffer (without Mg <sup>2+</sup> )	1x	10μl
MgCl <sub>2</sub> (25mM)	{ 1.75mM 2.5mM	3.5μl 5.0μl *
dNTPs (10mM each dNTP)	0.3mM	1.5μl
Fwd primer (10μM)	0.5μM	2.5μl
Rev primer (10μM)	0.5μM	2.5μl
Template	As required	As required
KAPATaq EXtra DNA Polymerase (5U/μl)	1.25U/50μl	0.25μl
<b>Total</b>		<b>50μl</b>

\*Please try two MgCl<sub>2</sub> concentrations.

### PCR cycling conditions might consist of:

Initial Denaturation:	94°C	2min	} 25 cycles**
Denaturation:	94°C	15 - 25sec*	
Annealing:	T <sub>m</sub> -5°C	15 sec	
Extension:	72°C**	1min per 1kb	
Final Extension:	72°C	1min per 1kb	

\* 15 sec for slow-block instruments, 25 sec for fast-block instruments.

\*\*For longer targets (up to to 12 kb) and/or lower concentrations of template DNA lower the extension temperature to 68°C and perform 35 cycles.

## License

The purchase of this product conveys to the purchaser only the limited, non-transferable right to use the purchased quantity of the product for the purchaser's own research by the purchaser only under the following U.S. patent claims and foreign counterpart patent claims: U.S. Patent No. 5,436,149 (claims 6-16). No rights are granted to the purchaser to sell, modify for resale or otherwise transfer this product, either alone or as a component of another product, to any third party. Takara Bio reserves all other rights, and this product may not be used in any manner other than as provided herein. For information on obtaining a license to use this product for purposes other than research, please contact Takara Bio Inc., Seta 3-4-1, Otsu, Shiga 520-2193, Japan (Fax +81-77-543-9254).