

# 耐熱性鎖置換型 DNA Polymerase

## NEW Bst DNA Polymerase, Csa DNA Polymerase, 96-7 DNA Polymerase

製品名	包装単位	希望納入価格	Code No.
Bst DNA Polymerase <b>NEW</b>	1,600 units	¥ 9,000	311-07481
Csa DNA Polymerase	1,600 units	¥ 9,000	319-07281
96-7 DNA Polymerase	1,600 units	¥ 9,000	319-07301
dNTPs Mixture (25 mM each)	400 µl	¥ 10,000	312-07271

本品は、耐熱性及び鎖置換型 DNA ポリメラーゼ活性を有し、鋳型となる二本鎖 DNA の水素結合を自ら解離しつつ、新しい DNA 鎖を合成する酵素です。鎖置換型 DNA ポリメラーゼは、その特性から二本鎖 DNA の解離を必要としないため、一定温度での DNA 合成が可能です。

### 特長

- ・ 5'→3' DNA ポリメラーゼ活性および鎖置換活性を有する
- ・ 一定温度での DNA 合成が可能
- ・ GC 含量が高い DNA 鎖の合成に適している
- ・ DNA の二次構造による阻害を受けない
- ・ 反応温度の異なる 3 種の酵素をラインナップ

### 用途

鎖置換活性を利用したアプリケーション  
(等温遺伝子増幅法など)

製品名	至適反応温度	失活温度*	構成品
Bst DNA Polymerase	60 - 65 °C	80 °C、5 分間	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ Bst DNA Polymerase 200 µl</li> <li>・ 10 × Bst Reaction Buffer (80 mM Mg<sup>2+</sup>) 500 µl</li> </ul>
Csa DNA Polymerase	60 - 70 °C	85 °C、5 分間	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ Csa DNA Polymerase 200 µl</li> <li>・ 10 × Csa Reaction Buffer (80 mM Mg<sup>2+</sup>) 500 µl</li> </ul>
96-7 DNA Polymerase	50 - 55 °C	70 °C、5 分間	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 96-7 DNA Polymerase 200 µl</li> <li>・ 10 × 96-7 Reaction Buffer (95 mM Mg<sup>2+</sup>) 500 µl</li> </ul>

\*: 酵素原液をそのまま熱変性した場合の失活温度

活性: 8 units / µl

純度: SDS-PAGE による純度試験で、メインバンドが 80% 以上で適合とする

品質管理: エンドヌクレアーゼチェック、エキソヌクレアーゼチェック

【注意事項】・ 本製品は試験研究用です。

・ Csa DNA Polymerase、96-7 DNA Polymerase 及びそれらの生産方法は株式会社ニッポンジーンが特許出願中です。

## 使用例 1 《Bst DNA Polymerase》 LAMP 法への利用 注1

### ■ LAMP 法 反応条件 注2

#### ・ 反応液組成

Candidatus Liberibacter asiaticus DNA	1 × 10 <sup>6</sup> copies
FIP	40 pmol
BIP	40 pmol
F3 Primer	5 pmol
B3 Primer	5 pmol
Loop Primer F	20 pmol
Loop Primer B	20 pmol
dNTPs Mixture	1.4 mM each
10 × Bst Reaction Buffer	1 ×
Bst DNA Polymerase	8 units
全量	25 µl

・ 反応: 65°C、60 分間

### ■ プライマー配列

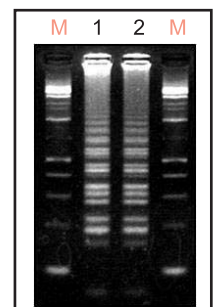
FIP: 5'-GCATGCCGAGGATCAATGCCTTGCTTAAAGAGCGTGCTACG-3'  
 BIP: 5'-TATGCCTAATGGCACGGGGTAAGCTTCATCCGCCTTCGA-3'  
 F3 Primer: 5'-TGGGTTAAGTGATGCTGTGG-3'  
 B3 Primer: 5'-CAACAATATCAGCCCTGCT-3'  
 Loop Primer F: 5'-TCTCAACTGTTTCATCAAACCTAGC-3'  
 Loop Primer B: 5'-CGTGCGGTTTTTGCTACA-3'

### ■ 備考

3.0% アガロース 21 / TAE ゲル電気泳動  
 エチジウムブロマイド染色

### ■ レーン

M: Gene Ladder Wide 1 (Code No. 313-06961)  
 1: 他社 Bst DNA Polymerase  
 2: 当社 Bst DNA Polymerase



LAMP 法に特徴的なラダーパターンが形成された

## 使用例 2 《Csa DNA Polymerase, 96-7 DNA Polymerase》 RCA 法による耐熱性と至適反応温度の評価

### ■RCA 法 反応条件

#### ・反応液組成

M13mp18 single strand DNA	20 ng
Universal Primer	50 nM
dNTPs Mixture	0.25 mM each
Tris-HCl (pH 8.8 at 25°C)	20 mM
KCl	10 mM
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	10 mM
MgSO <sub>4</sub>	2 mM
Tween 20	0.1%
DNA Polymerase	8 units
全量	20 μl

#### ・反応: 各温度にて 30 分間

### ■プライマー配列

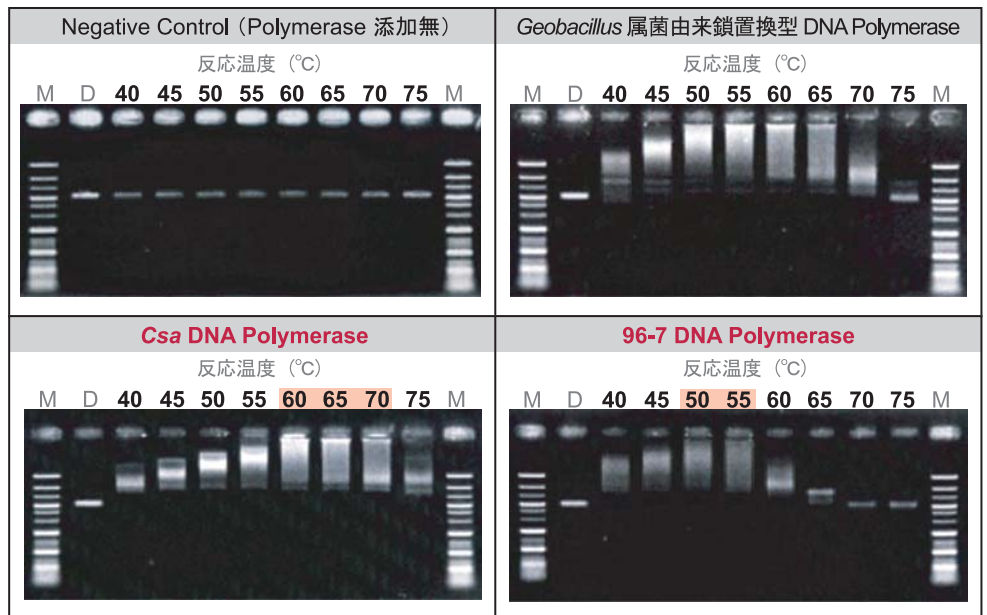
Universal Primer  
5'-GTTTTCCAGTCACGACGTTGTA-3'

### ■備考

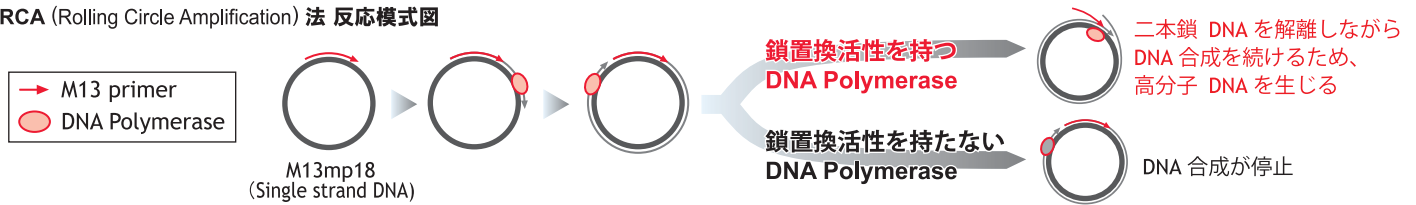
0.7% アガロース S / TAE ゲル電気泳動  
エチジウムブロマイド染色

### ■レーン

M: Gene Ladder Wide 1  
D: 鑄型 DNA (M13mp18) single strand DNA



### ■RCA (Rolling Circle Amplification) 法 反応模式図



## 使用例 3 《Csa DNA Polymerase, 96-7 DNA Polymerase》 LAMP 法への利用 <sup>注1</sup>

### ■LAMP 法 反応条件 <sup>注2</sup>

#### ・反応組成液

#### Csa DNA Polymerase

<i>Candidatus Liberibacter asiaticus</i> DNA	1 × 10 <sup>6</sup> copies
FIP	40 pmol
BIP	40 pmol
F3 Primer	5 pmol
B3 Primer	5 pmol
Loop Primer F	20 pmol
Loop Primer B	20 pmol
dNTPs Mixture	1.4 mM each
10 × Csa Reaction Buffer	1 ×
Csa DNA Polymerase	8 units
全量	25 μl

#### ・反応: 65°C、60 分間

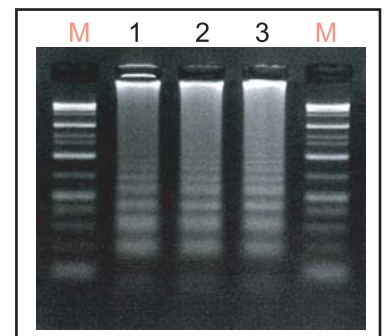
#### 96-7 DNA Polymerase

<i>Candidatus Liberibacter asiaticus</i> DNA	1 × 10 <sup>6</sup> copies
FIP	40 pmol
BIP	40 pmol
F3 Primer	5 pmol
B3 Primer	5 pmol
Loop Primer F	20 pmol
Loop Primer B	20 pmol
dNTPs Mixture	2.0 mM each
10 × 96-7 Reaction Buffer	1 ×
96-7 DNA Polymerase	8 units
全量	25 μl

#### ・反応: 60°C、60 分間

### ■レーン

M: Gene Ladder Wide 1  
1: *Geobacillus* 属菌由来鎖置換型 DNA Polymerase  
2: Csa DNA Polymerase  
3: 96-7 DNA Polymerase



**LAMP 法に特徴的なラダーパターンが形成された**

### ■プライマー配列

FIP: 5'-GCATGCCGAGGATCAATGCCTTGCTTAAAGAGCGTGCTACG-3'  
BIP: 5'-TATGCCTAATGGCAGCGGGTAAGCTTCATCCGCCTTCGA-3'  
F3 Primer: 5'-TGGGTTAAGTGATGCTGTGG-3'  
B3 Primer: 5'-CAACAATATCAGCCCTGCT-3'  
Loop Primer F: 5'-TCTCAACTGTTTCATCAAACCTAGC-3'  
Loop Primer B: 5'-CGTGGCGGTTTTTGTACA-3'

### ■備考

3.0% アガロース 21 / TAE ゲル電気泳動  
エチジウムブロマイド染色

注1 LAMP (Loop-mediated Isothermal Amplification) 法は栄研化学株式会社の特許を保有しています。

注2 *Candidatus Liberibacter asiaticus* を検出するための LAMP プライマーセットは、先端技術を活用した農林水産研究高度化事業「難防除病害カンキツグリーンング病の拡大阻止技術の開発」において、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構九州沖縄農業研究センターによって開発されました。

### 製造元

#### 株式会社ニッポンジーン

〒930-0834  
富山市問屋町一丁目8番7号  
Tel: 076-451-6548  
Fax: 076-451-6547  
E-mail: info@nippongene.com  
URL: http://www.nippongene.com

### 販売元

#### 和光純薬工業株式会社

本社 〒540-8605  
大阪市中央区道修町三丁目1番2号  
支店 〒103-0023  
東京都中央区日本橋本町四丁目5番13号  
Tel: 0120-052-099 Fax: 0120-052-806  
E-mail: labchem-tec@wako-chem.co.jp  
URL: http://www.wako-chem.co.jp