

耐熱性鎖置換型 DNA Polymerase

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	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"> ・ Bst DNA Polymerase 200 µl ・ 10 × Bst Reaction Buffer (80 mM Mg²⁺) 500 µl
Csa DNA Polymerase	60 - 70 °C	85 °C、5 分間	<ul style="list-style-type: none"> ・ Csa DNA Polymerase 200 µl ・ 10 × Csa Reaction Buffer (80 mM Mg²⁺) 500 µl
96-7 DNA Polymerase	50 - 55 °C	70 °C、5 分間	<ul style="list-style-type: none"> ・ 96-7 DNA Polymerase 200 µl ・ 10 × 96-7 Reaction Buffer (95 mM Mg²⁺) 500 µl

*: 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 ⁶ 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

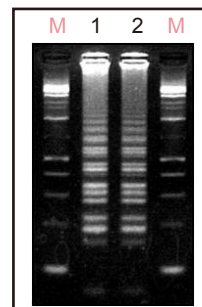
FIP: 5'-GCATGCCGAGGATCAATGCCTTGCTTAAAGAGCGTGCTACG-3'
 BIP: 5'-TATGCCTAATGGCACGGGGTAAGCTTCATCCGCTTCGA-3'
 F3 Primer: 5'-TGGGTTAAGTGATGCTGTGG-3'
 B3 Primer: 5'-CAACAATATCAGCCCTGCT-3'
 Loop Primer F: 5'-TCTCAACTGTTTCATCAAACCTAGC-3'
 Loop Primer B: 5'-CGTGGCGGTTTTTGTACA-3'

■ 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

■ 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 ₄) ₂ SO ₄	10 mM
MgSO ₄	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

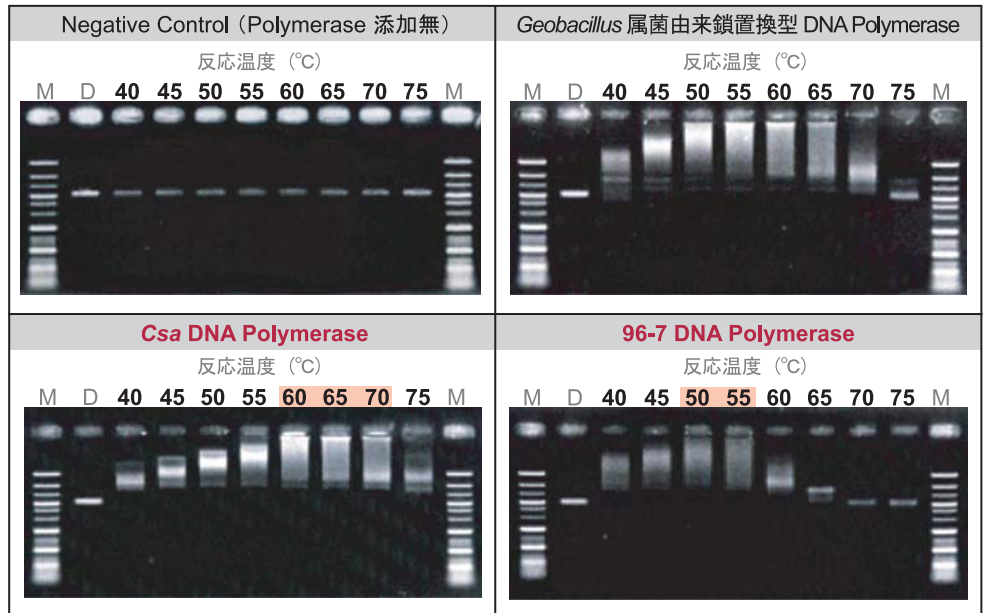
Universal Primer
5'-GTTTCCAGTCACGACGTTGTA-3'

■備考

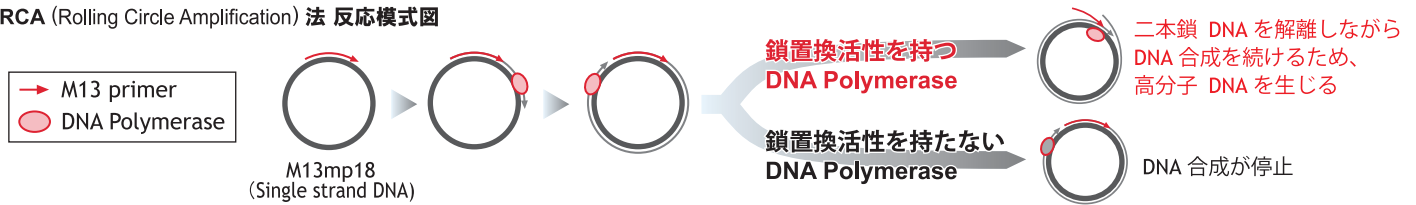
0.7% アガロース S / TAE ゲル電気泳動
エチジウムブロマイド染色

■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^{注1}

■LAMP 法 反応条件^{注2}

・反応組成液

Csa DNA Polymerase

<i>Candidatus Liberibacter asiaticus</i> DNA	1 × 10 ⁶ 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

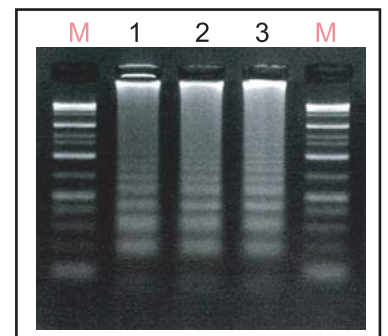
96-7 DNA Polymerase

<i>Candidatus Liberibacter asiaticus</i> DNA	1 × 10 ⁶ 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

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「難防除病害カンキョウ グリーニング病の拡大阻止技術の開発」において、国立研究開発法人 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 富士フィルム 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