

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	¥ 11,000	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 ℃、5 分間	 Bst DNA Polymerase 10 × Bst Reaction Buffer (80 mM Mg²⁺) 	200 μl 500 μl
Csa DNA Polymerase	60 - 70 °C	85 ℃、5 分間	Csa DNA Polymerase 10 × Csa Reaction Buffer (80 mM Mg²+)	200 μl 500 μl
96-7 DNA Polymerase	50 - 55 ℃	70 ℃、5 分間	 96-7 DNA Polymerase 10×96-7 Reaction Buffer (95 mM Mg²⁺) 	200 μl 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/ μ1

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。

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

火心 /牧祖 以	
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 μ Ι

· 反応: 65°C、60 分間

■プライマー配列

FIP: 5'-GCATGCCGAGGATCAATGCCTTGCTTAAAGAGCGTGCTACG-3' BIP: 5'-TATGCCTAATGGCACGGGGGTAAGCTTCATCCGCCTTCGA-3'

F3 Primer: 5'-TGGGTTAAGTGATGCTGTGG-3'
B3 Primer: 5'-CAACAATATCAGCCCCTGCT-3'

Loop Primer F: 5'-TCTCAACTGTTTCATCAAACCTAGC-3' Loop Primer B: 5'- CGTGGCGGTTTTTGCTACA-3'

■備考

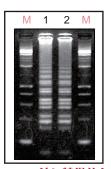
3.0% アガロース 21 / TAE ゲル電気泳動 エチジウムブロマイド染色

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
KCI	10 mM
(NH4)2SO4	10 mM
MgSO4	2 mM
Tween 20	0.1%
DNA Polymerase	8 units
全量	20 μ1

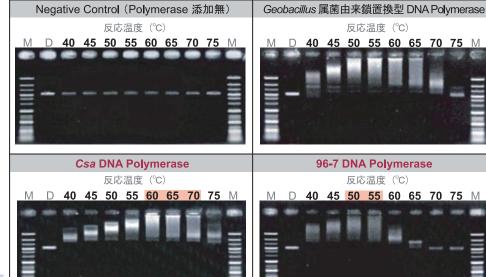
反応:各温度にて30分間

■プライマ一配列

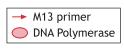
Universal Primer 5'-GTTTTCCCAGTCACGACGTTGTA-3'

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

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



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





鎖置換活性を持つ **DNA Polymerase**

鎖置換活性を持たない **DNA Polymerase**



二本鎖 DNA を解離しながら DNA 合成を続けるため、 高分子 DNA を生じる



DNA 合成が停止

M13mp18 (Single strand DNA)

《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

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 × Csa Reaction Buffer		1×
Csa DNA Polymerase		8 units
	全量	25 u l

反応: 65℃、60 分間

96-7 DNA Polymerase

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		2.0 mM each
10 × 96-7 Reaction Buffer		1×
96-7 DNA Polymerase		8 units
	全量	25 μΙ

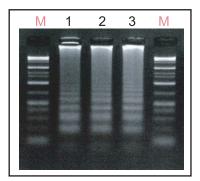
エチジウムブロマイド染色

• 反応: 60℃、60 分間

3.0% アガロース 21 / TAE ゲル電気泳動

■レーン

- M: Gene Ladder Wide 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

■プライマ一配列

FIP: 5'-GCATGCCGAGGATCAATGCCTTGCTTAAAGAGCGTGCTACG-3' BIP: 5'-TATGCCTAATGGCACGGGGGTAAGCTTCATCCGCCTTCGA-3'

F3 Primer: 5'-TGGGTTAAGTGATGCTGTGG-3' B3 Primer: 5'-CAACAATATCAGCCCCTGCT-3'

Loop Primer F: 5'-TCTCAACTGTTTCATCAAACCTAGC-3'

Loop Primer B: 5'-CGTGGCGGTTTTTGCTACA-3'

注1 LAMP(Loop-mediated Isothermal Amplification)法は栄研化学株式会社が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。

株式会社ニッポンジーン 製造元

〒930-0834 富山市問屋町二丁目7番18号 TEL: 076-451-6548 FAX: 076-451-6547 URL: https://www.nippongene.com

冨士フイルム 和光純薬株式会社 販売元

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

