

10x A-attachment mix

(Code No. TAK-301)

取扱説明書

TOYOBO CO., LTD. Life Science Department
OSAKA JAPAN

A4028K

1. はじめに

10x A-attachment mix は、KOD シリーズ用高効率 TA クローニングキット TArget Clone™ -Plus- (Code No.:TAK-201) に付属の 10x A-attachment mix のパーツ別売品です。

一般的に KOD DNA polymerase などの α 型 DNA polymerase によって増幅された PCR 産物は、そのプルーフリーディング活性 ($3' \rightarrow 5'$ エキソヌクレアーゼ活性) のため平滑末端となっています。従って、通常 TA クローニングを行うためには、PCR 産物を精製した後、改めて Taq DNA polymerase により、その $3'$ 末端に dA を付加する必要があります。10x A-attachment mix には、dA を付加するための Taq DNA polymerase に加えて、KOD DNA polymerase の $3' \rightarrow 5'$ エキソヌクレアーゼ活性を抑える抗 KOD 抗体が含まれているため、KOD シリーズで増幅された PCR 産物を、精製することなく、 $3'$ 末端に dA を付加することができます。

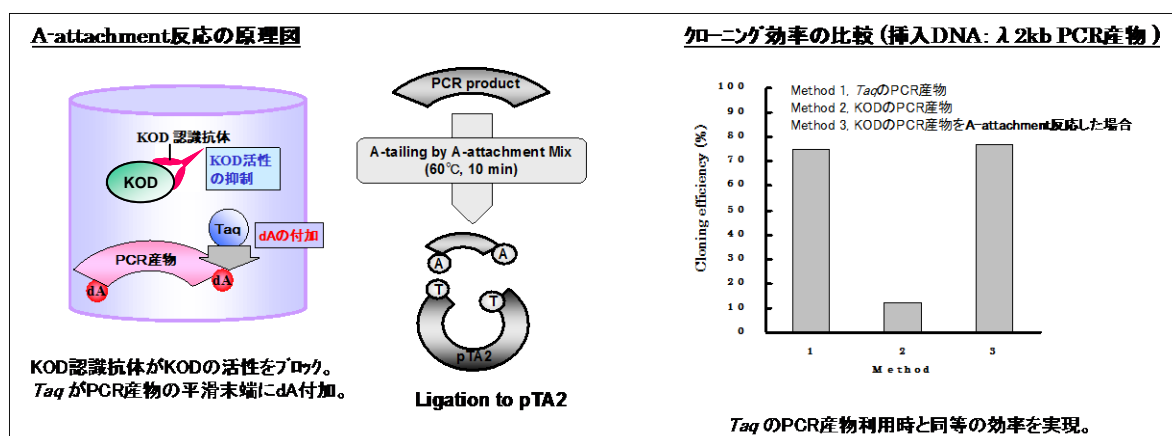
こうして dA が付加された PCR 産物は、高効率 TA クローニングキット TArget Clone™ (Code No.:TAK-101)、または TArget Clone™ -Plus- (Code No.:TAK-201) に含まれる T ベクター (pTA2) とライゲーション試薬を用いて直接クローニングできる他、任意の T ベクターとライゲーション試薬を用いてクローニングを行うことも可能です。

注 1) 本製品は、弊社 KOD DNA polymerase / KOD -Plus- / KOD -Plus- Ver.2 / KOD -Plus-Neo / KOD FX / KOD FX Neo による PCR 産物に有効です。KOD Dash による PCR 産物は、dA が付加されていますので、本製品を使用する必要はありません。

注 2) TArget Clone™、または TArget Clone™ -Plus- 付属のライゲーション試薬を用いない場合、TA クローニング効率に優れる Ligation high Ver.2 (Code No.: LGK-201) のご使用をお勧めします。

特長

- ・簡便: KOD シリーズにより増幅された PCR 産物に本製品を添加して 60°C 、10 分間反応するだけです。PCR 産物の精製を必要としません。
- ・高効率: Taq DNA polymerase で増幅された PCR 産物を TA クローニングした場合とほぼ同等のクローニング効率が期待できます。



ご注意

本製品は、研究用試薬です。診断および臨床検査用試薬として使用しないでください。また、本製品の使用にあたっては、実験室での一般の注意事項を厳守し、安全に留意してください。

2. 内容物

10x A-attachment mix 25 μ l (本品は、-20°Cにて保存してください。)

3. プロトコール

* 反応は、可能な限り、Tベクターとのライゲーション反応の直前に行ってください。

(1)KODシリーズで増幅したPCR産物9 μ lを新しいチューブに分取します。

注)PCR産物は精製せずにそのままお使いください。もし、精製されたPCR産物をお使いの場合には、PCR増幅に用いたバッファー、dNTP、(マグネシウム)をPCR時の濃度となるように添加し、9 μ lとしてください。ポリメラーゼは加えないでください。

(2)10x A-attachment Mixを1 μ l添加してよく攪拌します。

(3)60°Cで10分間インキュベートします。

注)効率が低い場合には、反応時間を30分間まで延長させてください(ほとんどの場合は10分間の反応で十分ですが、最大の付加効率は30分間の反応で得られます)。

(4)反応液の一部をTベクターとのライゲーション反応に使用します。

注1)反応液は、使用まで氷上または低温(2~10°C)で保存してください。

注2)ライゲーション反応は、TArget Clone™シリーズ付属のライゲーション試薬を用いない場合、TAクローニング効率に優れるLigation high Ver.2(Code No.:LGK-201)のご使用をお薦めします。また、その場合、A-attachment処理液のライゲーション反応への添加量は2 μ l以下にし、16°Cにて反応を行ってください。TArget Clone™ シリーズ試薬を用いる場合は、取扱説明書に従ってください。

4. 関連商品

品名	包装	Code No.
<高正確性 PCR 酵素> KOD DNA Polymerase	250U × 1 本 (250U × 1 本) × 5	KOD-101 KOD-101X5
<ホットスタート対応高正確性 PCR 酵素> KOD -Plus-	200U × 1 本 (200U × 1 本) × 5 (200U × 1 本) × 10	KOD-201 KOD-201X5 KOD-201X10
<信頼性を向上させたホットスタート対応高正確性 PCR 酵素> KOD -Plus- Ver.2	200U × 1 本 (200U × 1 本) × 5	KOD-211 KOD-211X5
<高正確・高効率・高速 PCR 酵素> KOD -Plus-Neo	200U × 1 本 (200U × 1 本) × 5 (200U × 1 本) × 10	KOD-401 KOD-401X5 KOD-401X10
<高成功率 PCR 酵素> KOD FX	200U × 1 本 (200U × 1 本) × 5 (200U × 1 本) × 10	KFX-101 KFX-101X5 KFX-101X10
<高成功率 PCR 酵素(KOD FX の改良品)> KOD FX Neo	200U × 1 本 (200U × 1 本) × 5 (200U × 1 本) × 10	KFX-201 KFX-201X5 KFX-201X10
<高効率 TA クローニングキット> TArget Clone™	10 回用	TAK-101
<KOD シリーズ用高効率 TA クローニングキット> TArget Clone™ -Plus-	10 回用	TAK-201
<高効率ライゲーション試薬> Ligation high Ver.2	750 μ l × 1 本	LGK-201



【製造・販売元】

－納期・注文に関するお問い合わせ－

東洋紡株式会社 ライフサイエンス事業部 (大阪)
〒530-8230 大阪市北区堂島浜二丁目 2 番 8 号
TEL 06-6348-3786 FAX 06-6348-3833
E-mail : order_lifescience@toyobo.jp

東洋紡株式会社 ライフサイエンス事業部 (東京)
〒104-8345 東京都中央区京橋一丁目 17 番 10 号 住友商事京橋ビル
TEL 03-6887-8819 FAX 03-6887-8951
E-mail : order_lifescience@toyobo.jp

－製品の内容・技術に関するお問い合わせ－

テクニカルライン
TEL 06-6348-3888 FAX 06-6348-3833
開設時間 9:00～12:00 , 13:00～17:00 (土、日、祝を除く)
E-mail : tech_osaka@toyobo.jp
[URL]: <http://lifescience.toyobo.co.jp/>