

09-11



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 3'→5' エキソヌクレアーゼ活性 (3'→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'→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。

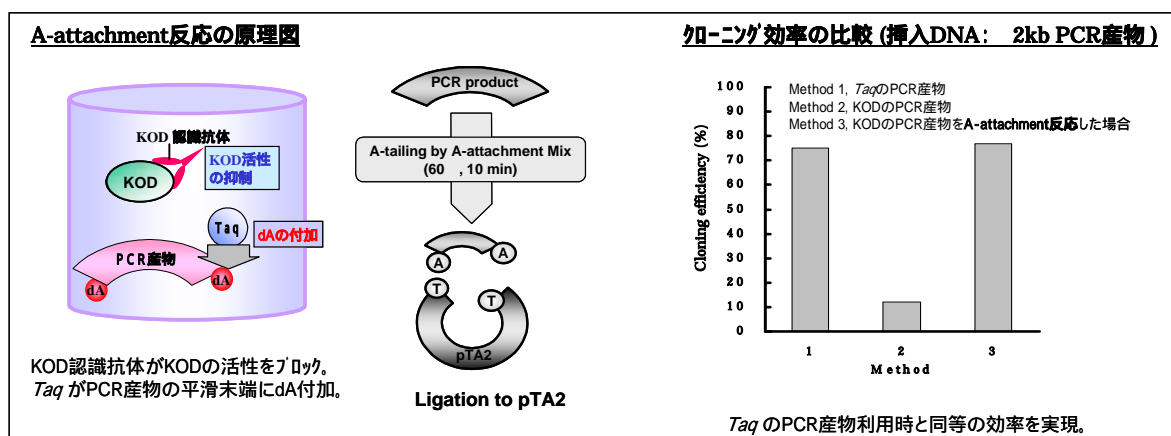
こうして dA が付加された PCR 産物は、高効率 TA クローニングキット TArget Clone™ (Code No.:TAK-101)、または TArget Clone™ -Plus- (Code No.:TAK-201) に含まれる T ベクター (pTA2) とライゲーション試薬を用いて直接クローニングできる他、任意の T ベクターとライゲーション試薬を用いてクローニングを行うことも可能です。

注 1) 本製品は、弊社 KOD DNA polymerase / KOD -Plus- / KOD -Plus- Ver.2 / KOD -Plus- Neo / KOD FX 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、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 µl (本品は、-20℃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 µl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 µl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 µl添加してよく撹拌します。

(3) 60℃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℃)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 µl以下にし、16℃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	KOD-401 KOD-401X5
<高成功率 PCR 酵素> KOD FX	200U × 1 本 (200U × 1 本) × 5	KFX-101 KFX-101X5
<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 µl × 1 本	LGK-201



【製造・販売元】



- 納期・注文に関するお問い合わせ -

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

ライフサイエンス事業部（東京）
〒141-8633 東京都品川区東五反田二丁目 10 番 2 号 東五反田スクエア
TEL 03-6422-4819 FAX 03-6422-4951
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://www.toyobo.co.jp/bio>