

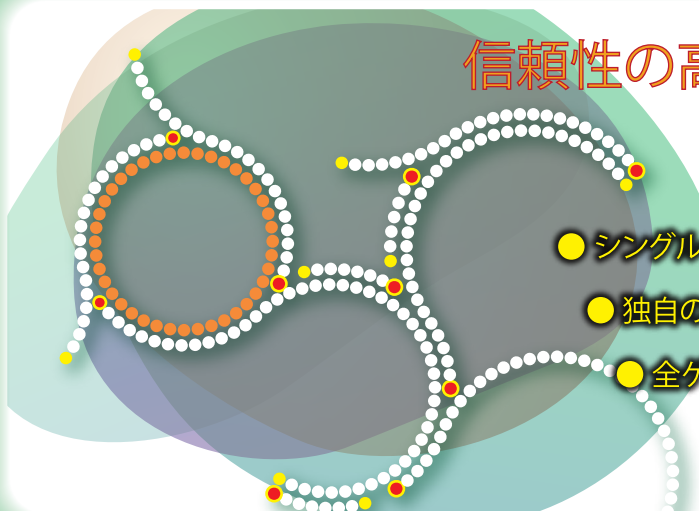
phi29 DNA Polymerase set

phi29 DNAポリメラーゼセット



Kanto Reagents

信頼性の高い微量DNAの増幅に



- シングルセルからのDNAを増幅可能
- 独自の製造技術により残存DNAを極限まで除去
- 全ゲノム増幅反応時に非特異増幅を抑制

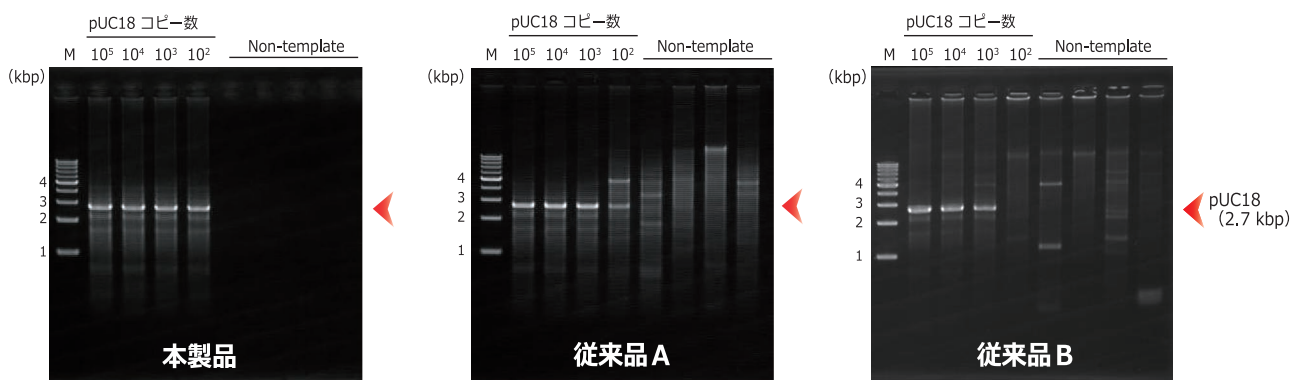
phi29 DNAポリメラーゼは、*Bacillus subtilis*ファージphi29由来のDNA合成酵素です。¹⁾
本酵素は、全ゲノム増幅法などのアプリケーションに利用されています。²⁻⁴⁾

特徴

- 中温性酵素 ⇒ 30℃付近で活性を持つ
- 高い鎖置鎖活性 ⇒ 等温反応が可能
- 速い合成速度 ⇒ 1秒あたり50-200塩基
- 高い伸長性 ⇒ ~70 kbpを合成可能
- 3'→5'エキソヌクレアーゼ活性 ⇒ 低い複製エラー率(Taq DNAポリメラーゼの100~1,000分の1)

使用例 1：本製品を使用した環状DNAの増幅(RCA法; Rolling Circle Amplification法)

本製品及び他社製品のphi29 DNAポリメラーゼを用いて、pUC18 DNAを試料として増幅反応を行いました。増幅産物を制限酵素(BamH IとEcoR I)で処理した後、pUC18 DNAのサイズ(2.7 kbp)を確認しました。



● 本製品では非特異的なDNA増幅がみられません。

製品番号	製品名	規格	容量	希望価格	保管温度
10195-96	phi29 DNAポリメラーゼセット(0.05 mg/ mL)	分子生物学用	1セット(25 µL × 4本)	30,000円	-25~-20℃

* phi29 DNAポリメラーゼ(0.05 mg/ mL) 25 µL×4本、および10×Reaction Buffer 100 µL×4本の構成です。
* 本製品は、農研機構 食品総合研究所との共同研究で開発されました。

使用例 2：本製品を使用したヒトゲノムDNAの全ゲノム増幅(MDA法; Multiple Displacement Amplification法)

本製品を用いて、ヒト全血液から調製した精製ヒトゲノムDNA または精製水 (No Template Control) を試料として下記のプロトコールで全ゲノム増幅を行いました。

プロトコール例

Template mix

10 × Reaction Buffer	1.0 μL
100 μM 6R5S primer*	2.0 μL
dDW	5.0 μL
Template DNA	2.0 μL
Total	10.0 μL

95°C、3 min

4°C

* 6R5S primer : rN*rN*rN*rN*rN*rN* (6mer)⁸⁾
(rNはRNAのmix塩基、*はホスホロチエート化を示す)

Reaction mix

10 × Reaction Buffer	1.0 μL
25 mM dNTP	0.8 μL
PPase (1 mg/mL)	0.1 μL
dDW	5.8 μL
1M DTT	0.1 μL
100 × SYBR Green II	0.2 μL
phi29Poly (0.05 mg/mL)	2.0 μL
Total	10.0 μL

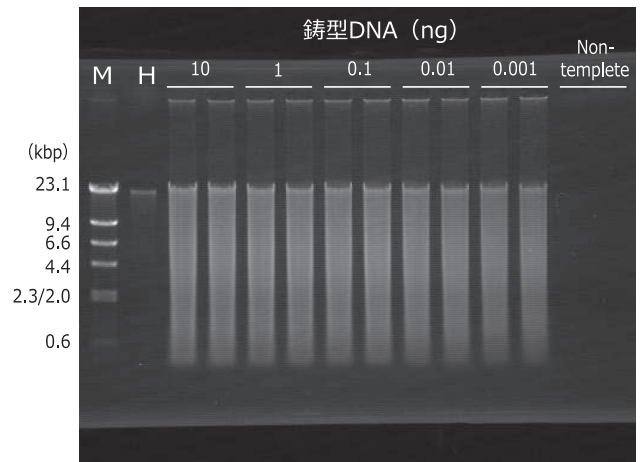
Template mixに添加

30°C、16 hr (10分間隔で蛍光測定)

65°C、10 min

4°C

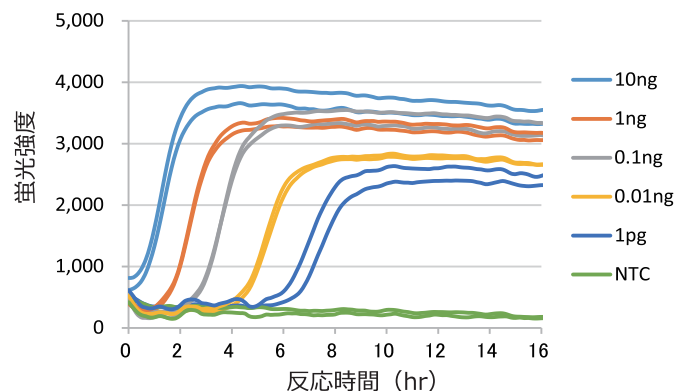
○ 非特異的なDNA増幅はみられません



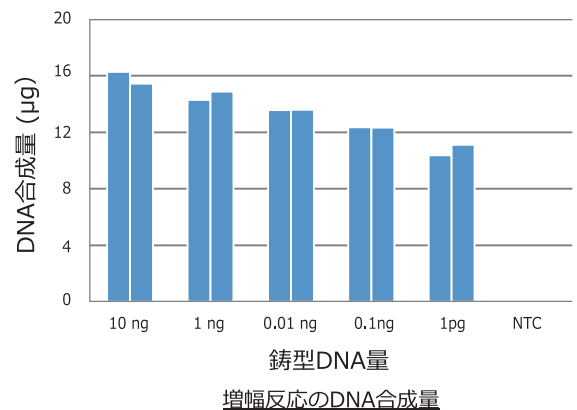
増幅産物のアガロースゲル電気泳動

M : λ-Hind IIIマーカー H : Human genomic DNA (25 ng)
10~0 : 全ゲノム増幅産物 1 μL
0.5% アガロースKANTO HC (1×TBE緩衝液) に、全ゲノム増幅産物 1 μL分をアプライし、100Vで30分間電気泳動を行いました。

○ 1 pgのDNAを10 μg以上に増幅できます (ヒト1細胞分のDNA: 6 pg)



ヒトゲノムDNAのMDA増幅曲線



参考文献

- 1) Blanco, L. and Salas, M. (1984) *PNAS.*, 81, 5325-5329
- 2) Blanco, L. et al. (1989) *J. Biol. Chem.*, 264, 8935-8940
- 3) Garmendia, C. et al. (1992) *J. Biol. Chem.*, 267, 2594-2599
- 4) Esteban, JA. et al. (1993) *J. Biol. Chem.*, 268, 2719-2726
- 5) Takahashi H, et al. (2014) *PLOS ONE.*, 9, e82624
- 6) Lizardi, PM, et al. (1998) *Nat. Genet.*, 19, 225-232
- 7) Dean, FB. et al. (2002) *PNAS.*, 99, 5261-5266
- 8) akahashi H, et al. (2009) *BioTechniques* 47., 609-61

関連製品 (発売予定)

残存DNAを極限まで除去した関連製品を発売予定です。詳細につきましてはお問合せ下さい。

製品名	規格
6R5S Primer(100 μM)	分子生物学用
dNTPs(25 mM)	分子生物学用

製品名	規格
DTT(100 mM)	分子生物学用
PPase(1 mg/mL)	分子生物学用

1 細胞からごく少量の核酸を増幅する高精度な技術の発達により、従来の核酸増幅技術ではあまり影響を与えなかったごく少量のコンタミネーションが大きな課題となっております。KOACH は独自の技術により、**ISO クラス 1** のスーパークリーン空間を形成し、コンタミネーション対策への新しいスタンダードをご提案いたします。

テーブルコーチ 「KOACH T 500-F」

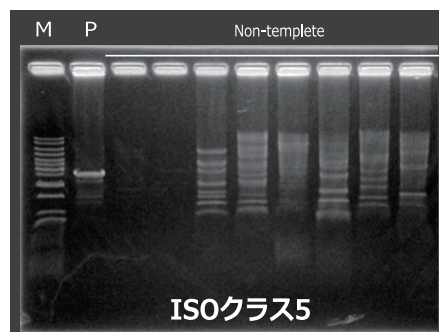
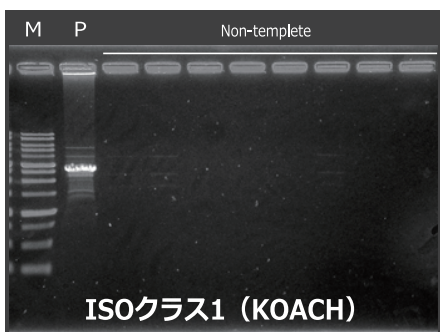


- **「ISOクラス1」の清浄空間を形成可能**
一般的なクリーンベンチは「ISOクラス5」ですがKOACHは「ISOクラス1」を実現しました。
- **好きな場所が「スーパークリーン」空間**
通常の机上でも「スーパークリーン」を実現します。持ち運べるので好きな場所へ設置可能です。
- **オープンな空間なので作業効率アップ**
実験器具や試薬の出し入れを自由に行うことができます。
- **清浄空間を素早く回復**
空間内のコンタミを素早く排出します。立ち上げ時や内部を汚してしまった時もコンタミを素早く排出できます。

清浄度の比較

- **KOACH**
... **ISOクラス1**
- **一般的なクリーンベンチ**
... **ISOクラス5**

ISO14644-1 (JIS B 9920)	旧米国連邦企画 (FED-STD-209D)	最大浮遊粒子数 (個 / m ³)			
		0.1 μm	0.3 μm	0.5 μm	1 μm
ISO クラス 1	-	10	1.02	0.35	0.083
ISO クラス 2	-	100	10.2	3.5	0.83
ISO クラス 3	クラス 1	1,000	102	35	8.3
ISO クラス 4	クラス 10	10,000	1,020	352	83
ISO クラス 5	クラス 100	100,000	10,200	3,520	832
ISO クラス 6	クラス 1,000	1,000,000	102,000	35,200	8,320
ISO クラス 7	クラス 10,000	1.0 × 10 ⁷	1.02 × 10 ⁶	352,000	83,200
ISO クラス 8	クラス 100,000	1.0 × 10 ⁸	1.02 × 10 ⁷	3.52 × 10 ⁶	832,000



ポジティブコントロールとネガティブコントロールの反応溶液をそれぞれISOクラス1 (テーブルコーチ)あるいはISOクラス5環境下で調製してから増幅反応後、電気泳動を行いました。

M : マーカー
P : ポジティブコントロール

● **ISOクラス1の環境下では非特異的な増幅は見られません**



テーブルコーチ 「KOACH T 500-F」 導入例

【オプション品】 「飛来物防止板 + イオナイザ付」

質量の大きいホコリ、ゴミに対してご不安な場合は、飛来物防止板をご使用いただければ安心して使用していただけます。また、中に入れる器具等の静電気対策にイオナイザもご用意しております。

商品情報

製品番号	商品名	メーカー番号	容量	希望価格(円)
98004-04	テーブルコーチKOACH T 500-F	901253	1セット	☆
98004-38	KOACH T 500-F用 飛来物防止板	903000	1台	☆
98004-39	KOACH T 500-F用 飛来物防止板 イオナイザ付	903019	1台	☆

☆価格についてはお問い合わせ下さい。

KOACH シリーズは他にも様々なタイプをご用意しております !!

連続コーチ 「KOACH R 1050-F」



フロアコーチ 「KOACH Ezp」



オープンクリーンベンチ 「KOACH C 900-F」



装置詳細につきましてはお問合せ下さい。一部装置につきましてはデモ機のご用意がございます。

- 本記載の製品は、試薬（試験、研究用として用いる化学薬品）としての用途にご利用ください。 ● 本記載価格に、消費税等は含まれておりません。
- 本記載の製品情報は予告なく変更する場合があります。最新情報は、弊社ホームページ「Cica-Web」をご確認ください。

Cica 関東化学株式会社
試薬事業本部 試薬部

103-0022 東京都中央区日本橋室町2丁目2番1号 (03) 6214-1090
541-0043 大阪市中央区高麗橋3丁目3番11号 (06) 6231-1672
812-0007 福岡市博多区東比恵2丁目22番3号 (092) 414-9361
<< <http://www.kanto.co.jp> >>