

TaKaRa Ex Taq[®] Hot Start Version

Code No. RR006A
Size : 250 units

Shipping at – 20°C
Store at – 20°C

Components :

TaKaRa Ex Taq HS	250 U
10X Ex Taq Buffer (20 mM Mg ²⁺ plus)	1 ml
dNTP Mixture (2.5 mM each)	800 µl

Conc. : 5 units/µl
Volume : 50 µl

Description :

TaKaRa Ex Taq HS is designed for hot start PCR; it includes a neutralizing monoclonal antibody that recognizes Taq DNA polymerase. This antibody inhibits polymerase activity by binding to Taq, thereby preventing nonspecific amplification due to mispriming and/or formation of primer dimers during reaction set-up before thermal cycling. Antibody-mediated repression is released during the initial DNA denaturation step of PCR. This enzyme can be used with standard PCR conditions.

Storage Buffer :

20 mM	Tris-HCl (pH8.0)
100 mM	KCl
0.1 mM	EDTA
1 mM	DTT
0.5%	Tween20
0.5%	Nonidet P-40
50%	Glycerol

Unit definition :

One unit is the amount of enzyme that will incorporate 10 nmol of dNTPs into acid-insoluble products in 30 minutes at 74°C with activated salmon sperm DNA as the template-primer.

Reaction mixture for unit definition:

25 mM	TAPS (pH9.3 at 25°C)
50 mM	KCl
2 mM	MgCl ₂
0.1 mM	DTT
200 µM ea.	dATP·dGTP·dCTP
100 µM	[³ H]-dTTP
0.25 mg/ml	activated salmon sperm DNA

Purity :

Nicking, endonuclease, and exonuclease activity were not detected after incubation of 0.6 µg of supercoiled pBR322 DNA, 0.6 µg of λ DNA, or 0.6 µg of λ-Hind III digest with 10 units of this enzyme for 1 hour at 74°C.

PCR products :

As most PCR products amplified with TaKaRa Ex Taq HS have one A at the 3'-termini, the obtained PCR products can be directly cloned into a T-vector. Also it is possible to clone the product in blunt-end vectors after blunting and phosphorylation of the end.

Application : For DNA amplification by hot start PCR

PCR test :

Good performance in PCR was confirmed by amplification of a 17.5 kb fragment of the β-globin gene from human genomic DNA, and amplification of a 20 kb fragment from λ DNA.

General reaction mixture for PCR (50 µl reaction volume)

TaKaRa Ex Taq HS (5 units/µl)	0.25 µl
10X Ex Taq Buffer	5 µl
dNTP Mixture (2.5 mM each)	4 µl
Template	< 500 ng
Primer 1	10 - 50 pmol (final conc. 0.2 - 1.0 µM)
Primer 2	10 - 50 pmol (final conc. 0.2 - 1.0 µM)
Sterile distilled water	up to 50 µl

(Note) Reaction mixtures can be prepared at room temperature. Keep all reagents on ice.

PCR conditions :

This enzyme can be used with standard PCR conditions, since the monoclonal antibody is denatured during the initial DNA-denaturation step. There is no need for an additional step to denature the anti-Ta_q antibody.

Example : Amplification of 1 kb DNA fragment

98°C	10 sec.] 30 cycles	98°C	10 sec.] 30 cycles
55°C	30 sec.		68°C	1 min.	
72°C	1 min.				

(Note) Denaturation conditions vary depending on the thermal cycler and tubes used for PCR. Denaturation for 5 - 10 sec. at 98°C, or 20 - 30 sec. at 94°C is recommended.

TaKaRa Ex Taq is a registered trademark of TAKARA BIO INC.

Note

This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc. Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from TAKARA BIO INC. If you require licenses for other use, please contact us by phone at +81 77 543 7247 or from our website at www.takara-bio.com. Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements. All trademarks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

TaKaRa Ex Taq[®] Hot Start Version

Code No. RR006A
Size : 250 units

Shipping at - 20°C
Store at - 20°C

内容:

TaKaRa Ex Taq HS 250 U
10 × Ex Taq Buffer (20 mM Mg²⁺ plus) 1 ml
dNTP Mixture (2.5 mM each) 800 μl

濃度: 5 units/μl
容量: 50 μl

●製品説明

TaKaRa Ex Taq HS は、抗 Taq 抗体と TaKaRa Ex Taq を混合したもので、Hot Start PCR に用いる酵素である。高温に加熱するまでは抗 Taq 抗体が酵素に結合し、ポリメラーゼ活性を抑えているため、サイクル前のミスプライミングやプライマーダイマーに由来する非特異的増幅を防ぐことができる。

抗 Taq 抗体は、PCR の最初の DNA 変性ステップで変性するため、特別な変性ステップは必要なく、従来の PCR 条件で使用できる。

●形状

20 mM	Tris-HCl 緩衝液 (pH8.0)
100 mM	KCl
0.1 mM	EDTA
1 mM	DTT
0.5%	Tween20
0.5%	Nonidet P-40
50%	Glycerol

●活性の定義

活性化サケ精子 DNA を鋳型/プライマーとして用い、下記の活性測定用反応液中にて 74°C において、30 分間に 10 nmol の全ヌクレオチドを酸不溶性沈殿物に取り込む活性を 1 U とする。

●活性測定用反応液組成

25 mM	TAPS 緩衝液 (pH9.3, 25°C)
50 mM	KCl
2 mM	MgCl ₂
0.1 mM	DTT
各 200 μM	dATP・dGTP・dCTP
100 μM	[³ H]-dTTP
0.25 mg/ml	活性化サケ精子 DNA

●純度

- 10 U の本酵素と 0.6 μg の λ-Hind III 分解物とを 74°C、1 時間反応させても DNA の電気泳動パターンに変化は起こらない。
- 10 U の本酵素と 0.6 μg の supercoiled pBR322 DNA とを 74°C、1 時間反応させても DNA の電気泳動パターンに変化は起こらない。
- 10 U の本酵素と 0.6 μg の λDNA とを 74°C、1 時間反応させても DNA の電気泳動パターンに変化は起こらない。

●用途 Hot Start PCR 法による DNA 増幅

●PCR 産物について

TaKaRa Ex Taq HS を用いて増幅した PCR 産物のほとんどは、3' 末端に A が 1 塩基付加されている。したがって、その PCR 産物をそのまま T-vector にクローニングすることが可能である。また、末端平滑化およびリン酸化を行って、平滑末端のベクターにクローニングすることも可能である。

●品質検定

1. λ DNA を鋳型とした PCR 反応 (増幅産物 20 kb) において良好な増幅が見られることを確認している。
2. ヒトゲノム DNA を鋳型とした β-globin の PCR 反応 (増幅産物 17.5 kb) において良好な増幅が見られることを確認している。

●一般的な PCR 反応液組成 (total 50 μl)

TaKaRa Ex Taq HS (5 units/μl)	0.25 μl
10 × Ex Taq Buffer	5 μl
dNTP Mixture (2.5 mM each)	4 μl
Template	< 500 ng
Primer 1	0.2 ~ 1.0 μM (final conc.)
Primer 2	0.2 ~ 1.0 μM (final conc.)
滅菌蒸留水	up to 50 μl

注) 反応液の室温調製も可能であるが、試薬は必ず氷上に置いて使用する。

●PCR 条件

PCR の最初の DNA 変性ステップで抗 Taq 抗体は失活するので、従来の PCR 条件が使用できる。抗 Taq 抗体を失活させるための特別なステップは必要ない。

(例) 1 kb DNA を増幅する場合

98°C 10 sec.] 30 cycles or	98°C 10 sec.] 30 cycles
55°C 30 sec.		68°C 1 min.	
72°C 1 min.			

注) 変性条件は、サーマルサイクラーの使用機種と反応チューブの種類に合わせて設定する。設定の目安は、98°C 5 ~ 10 sec.、あるいは 94°C 20 ~ 30 sec.。

●注意

本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。本データシートに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

v201406Da

製品についての
技術的なお問い合わせ先

TaKaRa テクニカルサポートライン

Tel 077-543-6116
Fax 077-543-1977