

Premix Ex Taq™ Hot Start Version

Code No. RR030A Size: 500 μ l x 5
(for 100 PCR reactions)

Storage:

-20°C for long-term storage. 4°C for short-term storage (up to 3 months). If used frequently, store at 4°C ; repeated freezing and thawing will decrease its activity. Gently mix well before use and centrifuge briefly.

Description:

This product is an optimized mixture composed of enzyme (*TaKaRa Ex Taq*® HS), reaction buffer and dNTP Mixture as 2 - fold concentrations. *TaKaRa Ex Taq* HS is designed to be suitable for Hot Start PCR. It is derived from *TaKaRa Ex Taq* and neutralizing monoclonal antibody to *Taq* DNA polymerase. Non-specific amplification due to mispriming and/or formation of primer dimer before thermal cycling can be prevented, since the antibody inhibits the polymerase activity by binding to the *Taq* DNA polymerase until the temperature elevates. This enzyme can be used in general PCR conditions, since monoclonal antibody is denatured in the initial DNA denaturation step.

Components :

TaKaRa Ex Taq HS* : 1.25 U/25 μ l
dNTP Mixture : 2X conc.; ea. 0.4 mM
Ex Taq™ Buffer : 2X conc.; including 4 mM Mg²⁺

* : Specification of *TaKaRa Ex Taq* HS (Cat. #RR006A)

Unit definition :

One unit is the amount of enzyme that will incorporate 10 nmol of dNTP 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 (pH 9.3 at 25°C)
50 mM KCl
2 mM MgCl₂
0.1 mM DTT
200 μ M each dATP · dGTP · dCTP
100 μ M [³H]-dTTP
0.25 mg/ml activated salmon sperm DNA

Purity :

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

Applications:

For DNA amplification by Hot Start PCR.

PCR products:

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

Quality Control Data :

Please see the Certificate of Analysis (CoA) for each lot. You can download the CoA on Takara Bio website.

General reaction mixture for PCR (total 50 μ l) :

Premix Ex Taq Hot Start Version* 25 μ l
Template <500 ng
Primer 1 0.2 - 1.0 μ M (final conc.)
Primer 2 0.2 - 1.0 μ M (final conc.)
Sterile purified water up to 50 μ l

* Please mix gently to be uniform and then use.

PCR conditions :

This enzyme can be used in general PCR conditions, since the monoclonal antibody is denatured in the initial DNA denaturation step. No need for a special step to denature the antibody to *Taq* polymerase.

(Example) Amplification of 1 kb DNA fragment

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

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

TaKaRa Ex Taq is a registered trademark of Takara Bio Inc.
Premix Ex Taq and *Ex Taq* are trademarks 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 77 565 6972 or from our website at www.takarabio.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.

Premix Ex Taq™ Hot Start Version

Code No. RR030A 容量： 500 μ l \times 5
(100 回 PCR 反応分)

保存：

− 20℃ 保存 (4℃ で 3 ヶ月 保存可能)

注) 過度な凍結融解の繰り返しは活性が低下する場合があります。使用頻度が高い場合、いったん融解したものは 4℃ 保存をお勧めします。使用前には、転倒混和後スピンドウンしてください。

●製品説明

本製品は、*TaKaRa Ex Taq* HS、反応バッファー、dNTP Mixture をあらかじめ 2 倍濃度で混合したものである。*TaKaRa Ex Taq* HS は、抗 *Taq* 抗体と *TaKaRa Ex Taq* を混合したホットスタート PCR 用の酵素で、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、従来の PCR 条件で反応できる。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。

●内容

TaKaRa Ex Taq HS* : 1.25 U/25 μ l
dNTP Mixture : 2 \times conc.; 各 0.4 mM
Ex Taq Buffer : 2 \times conc.; 4 mM Mg²⁺ を含む

* : *TaKaRa Ex Taq* HS (製品コード RR006A)

○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℃ 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℃)
50 mM KCl
2 mM MgCl₂
0.1 mM DTT
各 200 μ M dATP·dGTP·dCTP
100 μ M [³H]-dTTP
0.25 mg/ml 活性化サケ精子 DNA

○純度

- 10 U の本酵素と 0.6 μ g の λ -Hind III 分解物を 74℃、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 μ g の supercoiled pBR322 DNA を 74℃、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 μ g の λ DNA を 74℃、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。

●品質管理データ

性能試験結果については、各ロットの Certificate of Analysis (CoA) をご覧ください。CoA はタカラバイオウェブサイトからダウンロードできます。

●PCR 反応例 (total 50 μ l PCR)

<i>Premix Ex Taq</i> Hot Start Version*	25 μ l
Template	< 500 ng
Primer 1	0.2 ~ 1.0 μ M (final conc.)
Primer 2	0.2 ~ 1.0 μ M (final conc.)
滅菌精製水	up to 50 μ l

* : 均一になるまでゆるやかに転倒混合して使用する。

●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 を増幅する時

98℃ 10 sec.	} 30 cycles	or	98℃ 10 sec.	} 30 cycles
55℃ 30 sec.		68℃ 1 min.		
72℃ 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℃ 5 ~ 10 sec.、あるいは 94℃ 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。