10XPCR Buffer,$MgCl_2$, dNTP Mixture for PCR

TaKaRa Ex Taq™

Code No. RR01AM
Size: 250 units

Shipping at -20°C
Stored at -20°C

Contents : ***TaKaRa Ex Taq™*** **(TaKaRa Cat.# RR001)**
10X *Ex Taq™* Buffer (Mg^{2+} free)
25 mM $MgCl_2$
dNTP Mixture

Lot No.
Conc. : units/μl
Volume : μl
Expiry Date :

Storage Buffer:

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

Unit definition: One unit is the amount of the enzyme that will incorporate10 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	$MgCl_2$
1 mM	2-mercaptoethanol
200 μM	each dATP,dGTP,dTTP
100 μM	[α-^{32}P]-dCTP
0.25 mg/ml	activated salmon sperm DNA

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

Applications:
For DNA amplification by Polymerase Chain Reaction (PCR).

PCR products : As most PCR products amplified with *TaKaRa Ex Taq* ™ 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.

PCR test : Good performance of DNA amplification by Polymerase Chain Reaction (PCR) was confirmed by using λ DNA as the template (amplified fragment : 20 kbp).
Good performance of DNA amplification of β-globin gene by PCR was also confirmed by using human genome DNA as the template (amplified fragment : approx 3 kbp).

General reaction mixture for PCR (total 50 μl)

TaKaRa Ex Taq ™ (5 units/μl)	0.25 μl
10X *Ex Taq* ™ Buffer (Mg^{2+} free)	5 μl
$MgCl_2$ (25 mM)	4 μl
dNTP Mixture (2.5 mM each)	4 μl
Template	< 500 ng
Primer 1	0.2 ~ 1.0 μM
Primer 2	0.2 ~ 1.0 μM
Sterilized distilled water	up to 50 μl

Supplied 10X *Ex Taq* ™ Buffer (Mg^{2+} free)
Supplied Size : 1 ml/vial
Storage : –20°C

Supplied 25 mM $MgCl_2$
Supplied Size : 1 ml/vial
Storage : –20°C

Supplied dNTP Mixture
Mixture of dNTP, ready for use in Polymerase Chain Reaction (PCR) without dilution.

Supplied Size	: 800 μl/vial
Concentration	: 2.5 mM of each dNTP
pH	: pH7~ 9
Form	: Solved in water (sodium salts)
Purity	: ≥ 98% for each dNTP
Storage	: –20°C

< **Cool Start Method** >
"'Cool Start Method' , enables to minimize the amplification of non-specific band in PCR and achieves more accurate amplification. This is a simpler method without need for special enzyme nor additional reagents.+ Higher reaction specificity can be achieved by combining Hot Start PCR techniques with Taq Antibody (Code.9002A) and Cool Start method.

Protocol of Cool Start Method
1) Keep all reagents on ice until use.
2) Prepare the reaction mixture on ice.*,**
*The adding order of reagents dose not influence on results.
**The result will not be affected even when the mixture is left on ice 30 min. before thermal cycling.
3) Set a thermal cycler ready to start with the designated program.***
***No need to change PCR conditions especially for Cool Start.
4) Set the tubes in a thermal cycler and start thermal cycling immediately.

+ JAPAN Patent 2576741 for Cool Start Method is owned by SHIMAZU CORPORATION.

Note
For research use only. Not for use in diagnostic or therapeutic procedures.

Produced by TAKARA BIOTECHNOLOGY (DALIAN) CO.,LTD.

U.S. Patent 5 ,436,149 for LA Technology is owned by TAKARA BIO INC.

NOTICE TO PURCHASER: LIMITED LICENSE
A license under the foreign counterparts of U.S. Patents Nos. 4,683,202, 4,683,195 and 4,965,188 owned by F.Hoffmann-La Roche Ltd. and U.S. Patent No. 5,075,216 and its foreign counterpart, owned by Roche Molecular Systems, Inc. and F.Hoffmann-La Roche Ltd. for use in research and development, has an up-front fee component and a running-royalty component. The purchase price of this product includes limited, nontransferable rights under the running-royalty component to use only this amount of the product to practice the polymerase chain reaction (PCR) and related processes described in said patents where such processes are covered by patents solely for the research and development activities of the purchaser when this product is used in conjunction with a thermal cycler whose use is covered by the up-front fee component. Rights to the up-front fee component must be obtained by the end user in order to have a complete license to use this product in the PCR process where the process is covered by patents. These rights under the up-front fee component may be purchased from Applied Biosystems or obtained by purchasing an authorized thermal cycler. No right to perform or offer commercial services of any kind using PCR, where the process is covered by patents, including without limitation reporting the results of purchaser's activities for a fee or other commercial consideration, is hereby granted by implication or estoppel. Further information on purchasing licenses to practice the PCR process where the process is covered by patents may be obtained by contacting the Director of Licensing, Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404 or the Licensing Department, Roche Molecular Systems, Inc., 1145 Atlantic Avenue, Alameda, California 94501.

V2006.01Da

10×PCR Buffer,$MgCl_2$, dNTP Mixture for PCR

TaKaRa Ex Taq®

Code No. RR01AM
Size: 250 units

Shipping at -20℃
Stored at -20℃

内容： *TaKaRa Ex Taq*® (製品コードRR001)
10X *Ex Taq*™ Buffer (Mg^{2+} free)
25 mM $MgCl_2$
dNTP Mixture

Lot No. (英文面をご覧ください。)
濃度： (英文面をご覧ください。)
容量： (英文面をご覧ください。)
品質保証期限 ： (英文面をご覧ください。)

●形状

20 mM	Tris-HCl 緩衝液(pH8.0)
100 mM	KCl
0.1 mM	EDTA
1 mM	DTT
0.5%	Tween®20
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℃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1U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	$MgCl_2$
1 mM	2-メルカプトエタノール
各200 μM	dATP･dGTP･dTTP
100 μM	[α-^{32}P]dCTP
0.25 mg/ml	活性化サケ精子DNA

●純度
1. 10Uの本酵素と0.6 μgのλ-*Hin*d III分解物とを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。
2. 10Uの本酵素と0.6 μgのsupercoiled pBR322 DNAとを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。
3. 10Uの本酵素と0.6μgのλDNAとを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
Polymerase Chain Reaction (PCR)法によるDNA増幅

●PCR産物について
Ex Taq™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。

●PCR検定
1. λDNAを鋳型としたPCR反応（増幅産物20 kbp）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Genomic DNAを鋳型としたβ-globin遺伝子のPCR反応（増幅産物約3 kbp）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反応組成 (total 50 μl)

TaKaRa Ex Taq® (5 units/ μl)	0.25 μl
10X *Ex Taq*™ Buffer (Mg^{2+} free)	5 μl
$MgCl_2$ (25 mM)	4 μl
dNTP Mixture (2.5 mM each)	4 μl
Template	< 500 ng
Primer 1	0.2 ~ 1.0 μM
Primer 2	0.2 ~ 1.0 μM
滅菌蒸留水	up to 50 μl

10X *Ex Taq*™ Buffer (Mg^{2+} free)
●包装単位 1.0 ml
●保存 -20℃

25 mM $MgCl_2$
●包装単位 1.0 ml
●保存 -20℃

dNTP Mixture
dATP,dCTP,dTTP,dGTPの等モル混合物で、希釈せずにそのままPCR反応に用いることができます。
●包装単位 800 μl
●濃度 各2.5 mM
●pH pH7～9
●形状 水溶液（ナトリウム塩）
●純度 各98%以上
●保存 -20℃

◆ Cool Start 法 ◆
PCRの際の非特異的な増幅を抑える手法としては、ワックスや、専用酵素、試薬を用いたHot Start法が知られていますが、特別な酵素や試薬を必要としないCool Start法+により簡便にPCR時の非特異的増幅を抑えることができます。
【プロトコール】
1)試薬をすべて氷上に置いておきます。
2)試薬分注後の反応チューブは、即氷上に置きます。
（チューブに加える試薬の順番は問題になりません。調製後 30分たってから反応しても大丈夫です。）
3)サーマルサイクラーはスタートするだけの状態にしておきます。
（設定は既存のプログラムでOKです。）
4)反応チューブをサーマルサイクラーにセットし、即スタートさせます。
+ 本方法は(株)島津製作所の特許(2576741)です。

●注意
本製品は研究用試薬です。ヒト、動物への医療、臨床診断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。

V2006.01Da

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