

TaKaRa Ex Taq™ Hot Start Version

Code No. RR006A
Size : 250 units

Shipping at – 20°C
Store at – 20°C

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

Description : *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 mis-priming 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 also used in general PCR conditions, since monoclonal antibody is denatured in the initial DNA-denaturation step.

Components : *TaKaRa Ex Taq™* HS (5 units/μl) 50 μl
10 × *Ex Taq* Buffer (20 mM Mg²⁺ plus) 1 ml
dNTP Mixture (2.5 mM each) 800 μl

Storage Buffer : 20 mM Tris-HCl (pH8.0)
100 mM KCl
0.1 mM EDTA
1 mM DTT
0.5% Tween 20
0.5% NP-40
50% Glycerol

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 μM each dATP·dGTP·dCTP
100 μM [³H]-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.

Application : 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.

PCR test : Good performance of DNA amplification by PCR was confirmed by using λ DNA (amplified fragment: 20 kb) and human genomic DNA (amplified fragment: β-globin gene 17.5 kb) as the templates. Inhibition of *Taq* DNA polymerase activity by the antibody was confirmed to be more than 90% after the reaction at 55°C for 10 min.

General reaction mixture for PCR (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 10 - 50 pmol (final conc. 0.2 - 1.0 μM)
Primer 2 10 - 50 pmol (final conc. 0.2 - 1.0 μM)
Sterilized distilled water up to 50 μl

(Note) Reaction mixture can be set up at room temperature. Be sure to keep all reagents on ice.

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

(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.

NOTICE TO PURCHASER: LIMITED LICENSE

[P1] PCR Notice

Use of this product is covered by one or more of the following US patents and corresponding patent claims outside the US: 5,079,352, 5,789,224, 5,618,711, 6,127,155 and claims outside the US corresponding to US Patent No. 4,889,818. The purchase of this product includes a limited, non-transferable immunity from suit under the foregoing patent claims for using only this amount of product for the purchaser's own internal research. No right under any other patent claim (such as the patented 5' Nuclease Process claims in US Patents Nos. 5,210,015 and 5,487,972), no right to perform any patented method, and no right to perform commercial services of any kind, including without limitation reporting the results of purchaser's activities for a fee or other commercial consideration, is conveyed expressly, by implication, or by estoppel. This product is for research use only. Diagnostic uses under Roche patents require a separate license from Roche. Further information on purchasing licenses may be obtained by contacting the Director of Licensing, Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, USA.

[L15] Hot Start PCR

Licensed under U.S. Patent No. 5,338,671 and 5,587,287, and corresponding patents in other countries.

[M57] LA Technology

This product is covered by the claims 6-16 of U.S. Patent No. 5,436,149 and its foreign counterpart patent claims.

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.

TaKaRa Ex Taq® Hot Start Version

Code No. RR006A
Size: 250 units

Shipping at - 20°C
Store at - 20°C

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。)

●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。

●内容

TaKaRa Ex Taq® HS (5 units/μl)	50 μl
10 × Ex Taq Buffer (20 mM Mg ²⁺ plus)	1 ml
dNTP Mixture (各 2.5 mM)	800 μl

●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%	NP-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

- 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。
- ヒト Genomic 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。
- 55°C、10 分間の反応での抗体による Ex Taq 活性の阻害率が 90% 以上であ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
55°C 30 sec.	
72°C 1 min.	

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

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。