

Taq DNA ポリメラーゼ Hot-Start (+ dNTPs)

02-004 200 Units,

02-004-5 5 x 200 Units

輸送及び保存： 4℃又は-20℃で輸送、-20℃で保存。酵素液は凍結を防ぐため-20℃以下にしない。

用途：本品はホットスタート PCR に適した PCR 用酵素とその酵素の中和活性を持つ抗 Taq DNA ポリメラーゼ抗体(モノクローナル)の混合液です。反応開始前までは抗体が Taq DNA ポリメラーゼに結合して非特異的産物の生成を抑制する。反応開始後、高温になると短時間で抗体が失活し、特異性の高い PCR 反応を開始する。特にサイクル前や初期の非特異的反応が抑制されることで、特異的 PCR 反応産物の効率的増幅が得られる。(図 1)

*PCR 反応に適した反応系で、様々なプライマーを用いて効率の良い特異性の高い DNA 増幅が可能である。

製品の性質

活性の定義：活性化サケ精子 DNA を鋳型/プライマーとして 74℃、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 unit とする。

純度： SDS-PAGE (CBB 染色) で 95%以上が

Taq DNA polymerase タンパク質。

エンドヌクレアーゼおよびエキソヌクレアーゼのコンタミネーションが検出されないことを確認している。

一般的な PCR 反応液の組成 (total 50µl)

Taq DNA polymerase ホットスタートミクスチャ	1 µl
10x Standard Buffer (Taq)	5 µl
2.5mM (each) dNTPs	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

*酵素を大過剰に使用すると反応に不具合を生じます

PCR 検定： λ DNA を鋳型とした PCR 反応において良好な増幅がみられることを確認している。

Taq DNA polymerase ホットスタートミクスチャ： Taq DNA polymerase (1 unit/µl), 20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 100 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50% glycerol, 0.5% Tween20, 0.5% Igepal CA-630, 抗 Taq 抗体 (0.8 µg/ml) (#02-Hta)

添付： ① **10 x Standard Buffer (Taq)；** 100 mM Tris-HCl (pH 8.3) , 500 mM KCl, 15 mM MgCl₂ (02-Tsd 1.0ml)

② **2.5 mM (each) dNTPs** (02-Dnth 800µl)

図 1. 増幅例

PCR 条件

98° C 10 sec

60° C 30 sec 25 cycles

72° C 1 min.

ヒトゲノムをテンプレートにして numb 遺伝子領域をターゲットとして PCR を行った。この遺伝子の場合、ホットスタート(レーン 1)の方が通常の PCR (レーン 2) より増幅の効率が圧倒的に良い。

