

TaqExtreme HotStart

Cat.No. FG-TE250HS

取扱説明書 Ver.202409

Cat.No.	製品名	容量	濃度
FG-TE250HS	FastGene™ TaqExtreme HotStart	250 U	5 U/μL

【製品概要】

本製品は、抗Taq抗体とFastGene™ TaqExtremeを混合したHotStart専用の酵素です。抗Taq抗体が酵素に結合しているため、熱変性前まではポリメラーゼ活性をおさえることができ、PCR前のミスプライミングやプライマーダイマーによる非特異産物の増幅を防ぐことが可能です。また抗Taq抗体は、PCRの最初のステップで変性するため、特別なステップは不要で、標準的なPCR条件で使用できます。

【キット内容】

FastGene™ TaqExtreme HS (5 U/μL)	250 U
10 × TaqExtreme Buffer (Mg ²⁺ plus)	1 mL
dNTP Mixture (各2.5 mM)	800 μL

【酵素のストレージバッファー組成】

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% NP-40
50% Glycerol

【保存】

- 20℃

【使用例】

Hot Start PCR 法によるDNA 増幅

【仕様】

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 μM dATP・dGTP・dCTP
100 μM [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 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λ 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。

クローニングへの利用について

本製品にて増幅したPCR産物の多くはTAクローニングが可能です。(3'末端にAが1塩基付加されるため)
また、末端平滑化およびリン酸化を行い、平滑末端クローニングすることも可能です。

【PCRプロトコル】

- 1) 全ての試薬を氷上に置きます。
- 2) 下記組成表を参考にして、反応液を調製します。
※反応液の調整は室温でも可能ですが、試薬は氷上に置いてください。

一般的な PCR 反応液組成 (50 µL 反応系)

FastGene™ TaqExtreme HS (5 U/µL)	0.25 µL
10 × TaqExtreme Buffer (Mg ²⁺ plus)	5 µL
dNTP Mixture (各 2.5 mM)	4 µL
テンプレート	< 500 ng
プライマー 1	0.2 ~ 1.0 µM (終濃度)
プライマー 2	0.2 ~ 1.0 µM (終濃度)
滅菌精製水 (dH ₂ O)	up to 50 µL

- 3) サーマルサイクラーのプログラムを設定します。

PCR 条件 (例)

1 kb DNA を増幅する場合

3 Step PCR

98°C 10 sec
55°C 30 sec
72°C 1 min

30 cycles

2 Step PCR

98°C 10 sec
68°C 1 min

30 cycles

※ 熱変性の条件は使用するサーマルサイクラーの機種と反応チューブの種類にあわせて設定してください。

設定の目安としては、98°Cの場合は5~10秒、94°Cの場合は20~30秒です。

※ PCRの最初のDNA変性ステップで抗Taq抗体は失活するため、抗Taq抗体を失活させるための特別なステップは不要です。

- 4) 反応チューブをサーマルサイクラーにセットし、ただちにスタートします。



日本ジェネティクス株式会社 〒112-0004 東京都文京区後楽1-4-14 後楽森ビル18階
https://n-genetics.com ☎ info@genetics-n.co.jp ☎ 03 (3813) 0961 ☎ 03 (3813) 0962