

Taq DNA Polymerase Economy (+ dNTPs), with Robust buffer

02-002 200 U (5U/μl)

02-002-5

5 x 200 U (5U/μl)

本製品は、*Thermus aquaticus* DNA polymerase (*Taq* DNA polymerase) 遺伝子を大腸菌で大量に発現させ、高度に精製したものである。天然の *Taq* DNA polymerase と同じく分子量 94 kDa で耐熱性 DNA ポリメラーゼ活性をもつ。弊社独自の強力 (Robust)バッファーによって PCR の効率が顕著に向上した。

- PCR 反応に適した酵素で多様なプライマーを用いての DNA の増幅が可能

用途

- ・ ハイスルーブット PCR
- ・ コロニーPCR
- ・ dUTP、dTTP、蛍光標識ヌクレオチドの取り込み
- ・ プライマーエクステンション
- ・ 平滑末端の 3'末端に A を 1 塩基付加 (TA バクターにクローニング可)

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* DNAPolymerase 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。

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 (図 1)。

濃度：5 unit/μl

性状：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

保存：-20℃

添付：1. 10 x Robust buffer (Taq)

2. 2.5mM(each) dNTPs

(Robust buffer 使用上のご注意)

新しく添付しております 10 x Robust buffer (Taq)は *Taq* DNA polymerase の活性を最大限に引き出すように作成されておりますので伸長時間を長くとりすぎますと目的のプロダクト以外に上下にスミアーな泳動物が出現する場合があります。

次ページの実験例を参考に目的のプロダクトの大きさに合わせた伸長時間を設定してご使用ください。

一般的な PCR 反応液組成 (total 50μl)	
Taq DNA polymerase (5 unit/μl)	* 0.25 μl
10x Robust 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

*過剰に使用すると反応の不具合を生じることがあります

プロトコール：例

λ DNA 増幅例 PCR 条件

2kb, 4kb

94 ° C 1min
95 ° C 5sec
65 ° C 20sec } 25cycles

6kb

94 ° C 1min
95 ° C 5sec
65 ° C 1min } 25 cycles

8kb

94 ° C 1min
95 ° C 5sec
65 ° C 1min 20sec } 25 cycles

10kb, 12kb

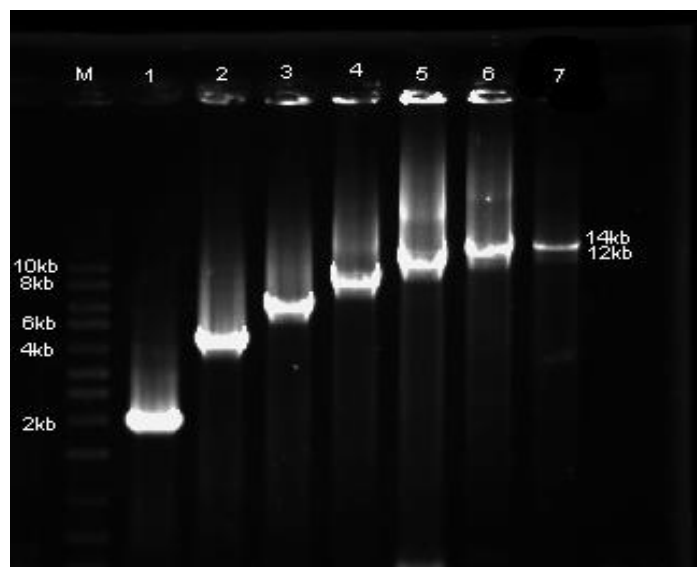
94 ° C 1min
98 ° C 5sec
68 ° C 3min
72 ° C 3min } 30 cycles

14kb

94 ° C 1min
98 ° C 5sec
68 ° C 4min
72 ° C 4min } 30 cycles

— (図1)

M	marker
Lane	
1	2kb
2	4kb
3	6kb
4	8kb
5	10kb
6	12kb
7	14kb



実験例では 2 step PCR を行っておりますが 3 step PCR もだいたい同じ伸長時間を目安にしてください。

8 kb ぐらいまでの伸長時間は 1 kb あたり約 5 ~ 10 秒、8 kb 以上の伸長には 1 kb あたり約 15 秒を設定しています。

また目的のプロダクトの生成のない場合は少し伸長時間を伸ばして PCR を行ってください。

実験例に示したように新規 Buffer による酵素反応は非常に速いので 2-step PCR を行うことをおすすめします。2-step PCR を行なうことにより従来の PCR より大幅に時間短縮して結果の確認ができます。

関連製品: # [02-001](#) Taq DNA Polymerase (+dNTPs) # [02-021](#) Pfu DNA Polymerase(+dNTPs)