

# TaKaRa EpiTaq™ HS (for bisulfite-treated DNA)

Code No. R110Q  
Size : 50 units

Shipping at – 20°C  
Store at – 20°C

Supplied Reagents :  
10X EpiTaq PCR Buffer (Mg<sup>2+</sup> free) 200 µl  
dNTP Mixture (2.5 mM each) 240 µl  
25 mM MgCl<sub>2</sub> 240 µl

Lot No.  
Concentration : 5 units/µl  
Volume : 10 µl  
Expiration Date:

For a detailed protocol, refer to the product user manual.

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

Supplied dNTP Mixture (2.5 mM each)  
dNTP Mixture is ready for use in PCR without dilution.  
Form : Dissolved in water (sodium salts), pH7 - 9  
Purity : ≥ 98% for each dNTP

Unit definition : One unit is the amount of enzyme that will incorporate 10 nmol of dNTPs into acid-insoluble products in 30 min. at 74°C with activated salmon sperm DNA as the template-primer.

Reaction mixture for unit definition :  
25 mM TAPS (pH9.3 at 25°C )  
50 mM KCl  
2 mM MgCl<sub>2</sub>  
0.1 mM DTT  
200 µM each dATP · dGTP · dCTP  
100 µM [<sup>3</sup>H]-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 : PCR amplification using bisulfite-treated DNA as a template.

PCR products : As most PCR products amplified with TaKaRa EpiTaq HS have one A at the 3'-termini, the obtained PCR products can be directly cloned into T-vectors. Also it is possible to clone the products in blunt end vectors after blunting and phosphorylation of the ends.

PCR test :  
Good performance by PCR was confirmed by amplification of a 148-bp fragment from a DNA template containing dUTP.  
Antibody-mediated inhibition of EpiTaq polymerase activity was confirmed to be more than 90% after the reaction was incubated at 55°C for 10 min.

General reaction mixture for PCR (total 50 µl) :

	Volume	Final conc.
TaKaRa EpiTaq HS (5 U/µl)	0.25 µl	1.25 U/50 µl
10X EpiTaq PCR Buffer (Mg <sup>2+</sup> free)	5 µl	1X
25 mM MgCl <sub>2</sub>	5 µl	2.5 mM
dNTP Mixture (2.5 mM each)	6 µl	0.3 mM
Template	< 100 ng	
Primer 1	20 pmol	0.4 µM
Primer 2	20 pmol	0.4 µM
Sterile distilled water	up to 50 µl	

Try the above reaction mixture first. If necessary, change the concentration of MgCl<sub>2</sub>, dNTP Mixture, or primers to improve amplification efficiency, extension, or specificity. Please refer to the "Troubleshooting" section in the product user manual for additional details.

PCR conditions : This enzyme can be used with standard PCR conditions, since the monoclonal antibody is denatured in the initial DNA denaturation step. There is no need for an additional step to denature the antibody to Taq polymerase.

Example : Amplification of a 0.5 kb DNA fragment

98°C 10 sec. \*1  
55°C 30 sec.  
72°C 30 sec. for <500 bp or 1 min. for 500 bp - 1 kb \*2

30 - 40 cycles

- \*1 : Denaturation conditions vary depending on the thermal cycler and tubes used for PCR. Denaturation for 5 - 10 sec. at 98°C, or 20 - 30 sec. at 94°C is recommended.  
\*2 : Please set it according to the amplicon size. The standard setting is 30 sec. for products < 500 bp and 1 min. for products 500 bp - 1 kb in size. For amplification of targets longer than 1 kb, the standard setting is 1 min./kb.

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: 5,789,224, 5,618,711, 6,127,155 and claims outside the US corresponding to expired US Patent No. 5,079,352. 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, 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.

EpiTaq is a trademark of TAKARA BIO INC.

#### 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](http://www.takara-bio.com). Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements. All trademarks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

# TaKaRa EpiTaq™ HS (for bisulfite-treated DNA)

Code No. R110Q  
Size : 50 units

Shipping at - 20°C  
Store at - 20°C

## 添付試薬

10 × EpiTaq PCR Buffer (Mg<sup>2+</sup> free) 200 μl  
dNTP Mixture (各 2.5 mM) 240 μl  
25 mM MgCl<sub>2</sub> 240 μl

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。)

本製品の使用方法については、製品添付の取扱説明書  
をご確認ください。

## ●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

## dNTP Mixture (各 2.5 mM)

dATP、dCTP、dGTP、dTTP 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る。

純度: 各 98% 以上

形状: 水溶液 (ナトリウム塩)、pH7 ~ 9

## ●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<sub>2</sub>  
0.1 mM DTT  
各 200 μM dATP・dGTP・dCTP  
100 μM [<sup>3</sup>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 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 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

バイサルファイト処理した DNA を鋳型とする PCR

## ●PCR 産物について

TaKaRa EpiTaq 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できる。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

dUTP を含む DNA を鋳型とした PCR 反応 (増幅産物 148 bp) 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 EpiTaq 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)

	使用量	最終濃度
TaKaRa EpiTaq HS (5 U/μl)	0.25 μl	1.25 U/50 μl
10 × EpiTaq PCR Buffer (Mg <sup>2+</sup> free)	5 μl	1X
25 mM MgCl <sub>2</sub>	5 μl	2.5 mM
dNTP Mixture (各 2.5 mM)	6 μl	0.3 mM
Template	< 100 ng	
Primer 1	20 pmol	0.4 μM
Primer 2	20 pmol	0.4 μM
滅菌蒸留水	up to 50 μl	

まず、この反応液組成を試す。増幅しない、エキストラバンドが出るなど問題が生じた場合は、MgCl<sub>2</sub>、dNTP Mixture、またはプライマーの濃度を検討する。(詳しくは説明書のトラブルシューティングを参照)

## ●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。

98°C 10 sec.\*1  
55°C 30 sec.  
72°C 30 sec./ ~ 500 bp or 1 min./500 bp ~ 1 kb\*2 } 30 ~ 40 cycles

\*1: 変性条件は使用機種と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。

\*2: 増幅サイズに応じて設定する。  
設定の目安は 30 sec./ ~ 500 bp、1 min./500 bp ~ 1 kb。1 kb を超える増幅を行う場合は、1 min./1 kb を目安に設定する。

## ●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。

ライセンスに関する最新の情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。本データシートに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。