

TaKaRa Ex Taq®

Code No. RR001Q
Size: 50 units

Shipping at – 20°C
Store at – 20°C

Supplied Reagents :

10X Ex Taq Buffer (20 mM Mg²⁺ plus) 1 ml
dNTP Mixture (2.5 mM each) 180 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%	Nonidet P-40
50%	Glycerol

Supplied dNTP Mixture :

dNTP Mixture is ready for use in PCR without dilution.

Concentration :	2.5 mM of each dNTP
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 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 (pH9.3 at 25°C)
50 mM	KCl
2 mM	MgCl ₂
0.1 mM	DTT
200 µM	each dATP · dGTP · dCTP
100 µM	[³ H]-dTTP
0.25 mg/ml	activated salmon sperm DNA

Purity :

Nicking, endonuclease and exonuclease activity were not detected after the 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.

Applications : For DNA amplification by polymerase chain reaction (PCR)

PCR products :

Most PCR products amplified with *TaKaRa Ex Taq* have one A added at the 3'-terminus. Thus, the PCR product can be used directly for cloning into a T-vector. Additionally, 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 using λ DNA as the template (amplified fragment: 20 kb).

Good performance of DNA amplification of a β-globin gene fragment by PCR was also confirmed using human genomic DNA as the template (amplified fragment: 17.5 kb).

General reaction mixture for PCR (total 50 µl) :

<i>TaKaRa Ex Taq</i> (5 units/µl)	0.25 µl
10X 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.)
Sterilized distilled water	up to 50 µl

Example of PCR conditions :

When amplifying a 1 kb DNA fragment

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

(Note) Denaturation conditions vary depending on the thermal cycler and tubes used for PCR. We recommend denaturing for 5 - 10 sec. at 98°C or 20 - 30 sec. at 94°C.

< Cool Start Method >

The Cool Start Method provides more accurate amplification and minimizes amplification of nonspecific bands. This is a simple method that does not require specialized enzymes or additional reagents.

Protocol for Cool Start Method

- 1) Keep all reagents on ice until use.
- 2) Prepare the reaction mixture on ice.*1,2
 - * 1 : The order in which reagents are added does not influence results.
 - * 2 : Results will not be affected by leaving the mixture on ice for 30 min. before thermal cycling.
- 3) Program a thermal cycler with the desired cycling conditions.*3
 - * 3 : PCR conditions do not need to be altered for the Cool Start Method.
- 4) Set the tubes in a thermal cycler and start thermal cycling immediately.

TaKaRa Ex Taq is a registered 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. 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 Ex Taq[®]

Code No. RR001Q
Size: 50 units

Shipping at - 20°C
Store at - 20°C

添付試薬:

10 × Ex Taq Buffer (20 mM Mg²⁺ plus) 1 ml
dNTP Mixture (各 2.5 mM) 180 μl

●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

●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

Polymerase Chain Reaction (PCR) 法による DNA 増幅

●PCR 産物について

TaKaRa Ex Taq 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。

●PCR 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。
- ヒトゲノム 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。

●一般的な PCR 反応液量 (total 50 μl)

TaKaRa Ex Taq (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

●PCR 条件 (例)

1 kb DNA を増幅する時

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

注) 変性条件は使用機種とチューブの種類にあわせて設定する。設定の目安は、98°C の場合は 5 sec. ~ 10 sec.、94°C の場合は 20 sec. ~ 30 sec.。

dNTP Mixture (各 2.5 mM)

dATP、dCTP、dTTP、dGTP 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。

- ・形状 水溶液 (ナトリウム塩)、pH7 ~ 9
- ・純度 各 98% 以上

◆Cool Start 法◆

下記の Cool Start 法により簡便に PCR 時の非特異的増幅を抑えることができる。

【プロトコール】

- 1) 試薬をすべて氷上に置く。
- 2) 試薬分注後の反応チューブは、ただちに氷上に置く。
(チューブに加える試薬の順番は問題にならない。調製後 30 分たってから反応しても問題はない。)
- 3) サーマルサイクラーをスタートするだけの状態にしておく。(設定は既存のプログラムで OK。)
- 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。

v201406Da