

レギュラーTaq HotStart

Cat.No. FG-RT250HS

取扱説明書 Ver.202403

Cat.No.	製品名	容量	濃度
FG-RT250HS	FastGene™ レギュラーTaq HotStart	250 U	5 U/μL

【製品概要】

FastGene™ レギュラーTaq HotStart は、抗Taq抗体とFastGene™ レギュラーTaqを混合した、Hot Start PCR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DNA変性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™ レギュラーTaq-HS (5 U/μL)	250 U
10×PCR Buffer (Mg ²⁺ plus)	1.0 mL
dNTP Mixture (各2.5 mM)	800 μL

【酵素のストレージバッファー】

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
- DNAシーケンシング

【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とします。

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 分解物を74℃、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℃、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を74℃、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。

PCR産物のクローニングについて

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、平滑末端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、反応液を調整します。
※ 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。

PCR 反応液量 (25 µL 反応系)

FastGene™ レギュラー Taq-HS (5 U/µL)	0.125 µL
10 × PCR Buffer (Mg ²⁺ plus)	2.5 µL
dNTP Mixture (各 2.5 mM)	2 µL
テンプレート	< 250 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 25 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

98℃	10 sec	} 30 cycles
55℃	30 sec	
72℃	1 min	

※ 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℃の場合は5~10秒、94℃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。

補足

10 × PCR Buffer (Mg²⁺ plus)

- 100 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH8.9)
- 500 mM KCl
- 15 mM MgCl₂

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ます。

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



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 TEL 03 (3813) 0961 FAX 03 (3813) 0962