



For research use only

ISO9001

rTaq Plus DNA Polymerase

제 품 명	용 량	Cat. No.	비 고
rTaq Plus DNA Polymerase	250 unit	EBT-1317	5 unit/μl
	500 unit	EBT-1318	5 unit/μl

제품설명:

rTaq Plus DNA 중합효소는 초고속 증폭 특성을 가지고 있으며 (약 100 bp/초의 elongation 속도와 250 base의 processivity). 5kbp 크기의 DNA 산물을 60초의 extension time으로도 증폭할 수 있는 효소입니다. 또한 높은 증폭효율로 인해 일반적인 PCR에서 검출하기 어려운 표적유전자의 검출에도 유용하게 사용될 수 있습니다.

유전자 검출/분석을 위한 모든 PCR 반응에 사용할 수 있습니다 (cDNA의 PCR, genomic DNA의 PCR, multiplex PCR 등). Proof-reading 기능이 없는 제품이므로 (3'→5' exonuclease의 불화성), 높은 정확도가 요구되는 cloning 목적의 DNA 증폭실험에는 적합하지 않습니다. 같은 이유로 PCR산물에는 3'-dA overhang이 붙으므로 TA cloning에 사용할 수 있습니다. rTaq Plus 효소는 또한 5'→3' exonuclease의 활성을 가지고 있지 않으므로 probe를 이용하는 real-time PCR 방법에는 사용이 적합하지 않습니다. 본 제품은 최적화된 10x Reaction Buffer와 함께 제공되며 다른 buffer들과의 혼용이 불가합니다.

응용분야:

RT-PCR, genotyping, SNP PCR, multiplex PCR.

활성도 및 보관조성:

5 unit/μl (50 mM Tris-HCl, pH8.0, 50 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 0.1% NP-40, 0.1% Tween-20, 50% Glycerol).

10x Reaction Buffer

Tris-HCl, KCl, 25 mM의 Mg 이온을 포함하는 10배 농축의 완충용액.

품질검사:

DNA 중합활성 시험, exo/endonuclease 오염 시험, genomic DNA의 오염여부 시험, 안정성 시험.

보관방법

-20°C에서 보관할 경우 2년간 안정함.

10x Reaction Buffer는 녹인 후 4°C에 보관하는 것을 권장함.

표준실험방법:

1. 다음과 같이 50 μl의 PCR 혼합용액을 조제합니다 :

PCR grade distilled water :	- μl
10x rTaq Plus Buffer :	5 μl
10 mM dNTP mix (2.5 mM each) :	4 μl
Primer (10 pmol/μl) :	1 μl each
Template :	0.1-100 ng
rTaq Plus DNA Polymerase :	0.2-0.5 μl (1-2.5 unit)

최종부피가 20 μl가 되도록 증류수를 첨가합니다

*주의사항 : - 항상 rTaq Plus 효소를 가장 마지막에 첨가하여야 합니다.

- 반응용액의 최종 부피는 실험자에 의해 결정되는 문제이며 첨가되는 용액의 부피와 시료의 양은 항상 표준실험방법과 같은 비율이어야 합니다.
- 정확한 양의 효소 사용을 권장하며 양이 많거나 부족할 경우, 증폭에 문제가 발생할 수도 있습니다.
- Template의 양은 종류에 따라 달라지며 genomic DNA의 경우엔 1-100 ng이 RT-PCR의 경우엔 1 μg의 total RNA를 이용해 합성된 cDNA의 1/10-1/100이 적합합니다.

2. 다음과 같이 PCR cycling을 설정합니다 :

95°C에서의 초기 반응온도 : 3분

		1-2 kbp	3-4 kbp	5-10 kbp
Denature	95°C	10 초	10 초	20 초
Anneal	Tm-4°C	10 초	10 초	20 초
Extend	72°C	10 초	20 초	10 초/kbp

25-35 PCR cycles

*주의사항 : - 권장하는 것보다 오랜 extension 시간이 주어질 경우에 band의 퍼짐현상이 나타날 수 있습니다.

- PCR cycle의 횟수는 표적유전자의 copy수와 샘플의 양, 그리고 primer에 의해 결정되는 PCR 효율과 관련이 있는 내용으로서 두 차례 이상의 예비실험을 통해 표적유전자의 적절한 증폭을 관찰할 수 있는 cycle수로 설정하여야 합니다.
- PCR 산물을 TA cloning에 사용하고자 할 때는 PCR 반응이 끝난 후 최종 72°C에서 10분 정도 추가반응을 해주어야 합니다. 단순한 분석목적이라면 최종 72°C 반응은 불필요합니다.

3. 증폭이 완료된 PCR 산물은 크기에 따라 권장하는 %의 agarose gel과 buffer를 이용해 분석합니다 :

주의사항:

1. Primer는 dimer 또는 hair-pin 형성을 최소화하는 구조로 디자인 하여야 합니다.
2. 반응에 첨가되는 primer의 양이 많은 경우 cycle 과정 중 dimer의 형성이 촉진될 수 있으며 비특이적 산물의 증폭이 발생할 수 있습니다.
3. 증폭이 되지 않는 경우, 사용하고 계신 샘플과 primer의 적합성을 기존에 잘 되던 샘플/primer 조합을 이용해 비교하여 보시길 권장해 드립니다.
4. rTaq Plus 효소는 증폭효율은 뛰어난 반면 증폭산물의 에러 발생률이 일반적인 PCR 효소와 비슷합니다. 따라서 돌연변이의 도입이 문제될 수 있는 실험에는 사용하지 마시길 권해드리며 이 경우에는 자사의 Pfu polymerase 관련제품의 사용을 권장해 드립니다.