



For research use only

ISO9001

rTaq Plus HOT DNA Polymerase

제 품 명	용 량	Cat. No.	비 고
rTaq Plus HOT DNA Polymerase	250 unit	EBT-1611	5 unit/μl
	500 unit	EBT-1612	5 unit/μl

제품설명:

초고속, 고효율 증폭효소인 rTaq Plus를 변형하여 낮은 온도에서는 활성이 억제되어 있다가 초기 denaturation 온도에 노출된 후에야 활성이 나타나게 함으로써 hot-start PCR이 가능하도록 고안한 제품입니다. rTaq Plus 효소의 모든 특성과 더불어 과도한 primer dimer의 형성을 억제하고 또한 특이적 반응을 증가시켜 일반적인 방법으로는 증폭이 어려운 PCR 반응에 적합한 제품입니다.

유전자 검출/분석을 위한 모든 PCR 반응에 사용할 수 있습니다 (hot-start PCR, cDNA의 PCR, genomic DNA의 PCR, multiplex PCR, real-time 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 Hot DNA Polymerase는 또한 5'→3' exonuclease의 활성을 가지고 있지 않으므로 probe를 이용하는 real-time PCR 방법에는 사용이 적합하지 않습니다.

rTaq Plus HOT DNA Polymerase는 빠른 증합활성을 가지며 고온안정성이 뛰어난 특성을 가지고 있고 비특이적 산물의 생성이 억제되어 최상의 결과를 제공해 드릴 수 있습니다. 본 제품은 최적화된 10x Reaction Buffer와 함께 제공되며 다른 buffer들과의 혼용이 불가합니다.

응용분야:

Hot-start PCR, RT-PCR, genotyping, SNP PCR, multiplex PCR, SYBR green dye 를 이용한 real-time 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 증합활성 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 HOT 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 HOT DNA Polymerase :	0.2-0.5 μl (1-2.5 unit)

최종부피가 20 μl가 되도록 증류수를 첨가합니다

*주의사항 : - 항상 rTaq Plus HOT 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 합성한 cDNA의 1/10-1/100이 적합합니다.

2. 다음과 같이 PCR cycling을 설정합니다 :

95°C에서의 초기 반응온도 : 7분 이상

		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.

- 초기 95°C에서의 반응시간은 rTaq Plus Hot 효소의 활성화에 아주 중요한 요인으로서 시간이 부족한 경우, 증폭되는 산물의 증폭수율이 현저히 떨어질 수 있습니다. 따라서 항상 7분 이상이 되도록 설정하여야 합니다.
- 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.

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. 초기 95°C에서의 반응시간은 rTaq Plus Hot 효소의 활성화에 아주 중요한 요인으로서 7분 이상으로 세팅되어 있는지 반드시 확인하여야 합니다.
4. rTaq Plus HOT 효소는 반드시 동봉되어 있는 전용 buffer를 사용하여야 하며, 다른 회사의 buffer나 또는 다른 효소의 buffer와 호환되지 않습니다.
5. 증폭이 되지 않는 경우, 사용하고 계신 샘플과 primer의 적합성을 기존에 잘 되던 샘플/primer 조합을 이용해 비교하여 보시길 권장해 드립니다.