Premix Taq™ (TaKaRa Taq™ Version 2.0)

Code No. R004A Size: $500 \mu lx 6$ (for 120 PCR reactions)

Storage:

-20°C for long-term storage. 4°C for short-term storage (up to 3 months). If used frequently, store at 4°C; repeated freezing and thawing will decrease its activity. Gently mix well before use and centrifuge briefly.

Components:

TaKaRa Taq * : 1.25 U/25 μ l

dNTP Mixture : 2X conc. (0.4 mM each)

PCR Buffer : 2X conc.;

20 mM Tris-HCl, pH 8.9 100 mM KCl 3 mM MgCl₂

* Specification of TaKaRa Tag (Cat. #R001A)

Source:

Escherichia coli carrying a plasmid that encodes the *Thermus aquaticus* DNA polymerase gene

Unit definition:

One unit is the amount of enzyme that will incorporate 10 nmol of dNTP into acid-insoluble products in 30 minutes at $74 ^{\circ}\text{C}$ with activated salmon sperm DNA as the template-primer.

Reaction mixture for unit definition:

25 mM TAPS (pH 9.3 at 25°C)

50 mM KCl 2 mM MgCl₂ 0.1 mM DTT

200 μM each dATP·dGTP·dCTP

100 μM [³H]-dTTP

0.25 mg/ml activated salmon sperm DNA

Purity:

Nicking activity was not detected after the incubation of 1 μ g of supercoiled pBR322 DNA with 25 units of this enzyme for 1 hour at 74°C. Endonuclease and exonuclease activity were not detected after the incubation of 1 μ g of λ DNA or λ -Hind III digest with 25 units of this enzyme for 16 hours at 74°C.

Applications:

- · For DNA amplification by PCR
- For DNA sequencing

PCR products:

As most PCR products amplified with *TaKaRa Taq* have one A added at 3'-termini, the obtained PCR product can be directly used for cloning into T-Vector. Also it is possible to clone the product in blunt-end vectors after blunting and phosphorylation of the end.

Quality Control Data:

Please see the Certificate of Analysis (CoA) for each lot. You can download the CoA on Takara Bio website.

General reaction mixture for PCR (total 50 μ l):

 $\begin{array}{c} \textit{Premix Taq (TaKaRa Taq Version 2.0)} \\ \text{Template} \\ \text{Primer 1} \\ \text{Primer 2} \\ \text{Sterile purified water} \\ \end{array} \begin{array}{c} 25 \ \mu\text{I} \\ < 500 \ \text{ng} \\ 0.2 - 1.0 \ \mu\text{M (final conc.)} \\ 0.2 - 1.0 \ \mu\text{M (final conc.)} \\ \text{up to 50 } \mu\text{I} \\ \end{array}$

PCR condition (an example): When amplifying 1 kb DNA fragment.

98°C 10 sec 55°C 30 sec 72°C 1 min 30 cycles

Note: Denaturation condition varies depending on the thermal cycler and tubes used for PCR. The recommendation is for 5 - 10 sec at 98°C, or 20 - 30 sec at 94°C.

< Cool Start Method >

"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 of Cool Start Method

- 1) Keep all reagents on ice until use.
- 2) Prepare the reaction mixture on ice. * 1,2
 - $*\,1$ Order of reagent addition does not influence results.
 - *2 Results will not be affected by leaving the mixture on ice for 30 min before thermal cycling.
- 3) Set a thermal cycler with the designated program. *3
 - *3 PCR conditions dose not need to be changed for Cool Start.
- 4) Set the tubes in a thermal cycler and start thermal cycling immediately.

Premix Taq and TaKaRa Taq are trademarks 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 +8177 565 6972 or from our website at www.takarabio.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.

v202110Da

Premix Taq™

(TaKaRa Tag™ Version 2.0)

Code No. R004A 容量: 500 μl × 6 (120 回 PCR 反応分)

保存:

- 20℃保存(4℃で3ヵ月保存可能)

注)過度な凍結融解の繰り返しは活性が低下する場合があります。使用頻度が高い場合、いったん融解したものは4℃保存をお勧めします。使用前には、転倒混和後スピンダウンしてください。

●内容

TaKaRa Taq * : 1.25 U/25 μΙ

dNTP Mixture : 2 × conc.; 各 0.4 mM

PCR Buffer : $2 \times \text{conc.}$;

20 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH8.9)

100 mM KCl 3 mM MgCl₂

*: TaKaRa Tag (製品コードR001A)

○起源

Escherichia coli carrying a plasmid that encodes the *Thermus* aquaticus DNA polymerase gene

○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で、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 1U とする。

○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 μ M [3 H]-dTTP

0.25 mg/ml 活性化サケ精子 DNA

○純度

- 25 U の本酵素と 1 µg の λ-Hind III 分解物を 74℃、16 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。
- 2. 25 U の本酵素と 1 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。
- 3. 25 U の本酵素と 1 µg の λ DNA を 74℃、16 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

- ・PCR 法による DNA 増幅
- ・DNA シーケンシング

● PCR 産物について

TaKaRa 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。

●品質管理データ

性能試験結果については、各ロットの Certificate of Analysis (CoA) をご覧ください。CoA はタカラバイオウェブサイトからダウンロードできます。

● PCR 反応例 (total 50 µ I PCR)

Premix Taq (TaKaRa Taq Version 2.0)25 μlTemplate< 500 ng</td>Primer 10.2 \sim 1.0 μM (final conc.)Primer 20.2 \sim 1.0 μM (final conc.)滅菌精製水up to 50 μl

● PCR 条件 (例)

1kb DNA を増幅する時

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

注) 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℃5~10 sec、あるいは94℃20~30 sec。

◆ 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。

v202110Da