Premix Taq™ (*Ex Taq*™ Version 2.0)

Code No. RR003A Size: 500 μl x 6 (for 120 PCR reactions)

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

Components :

TaKaRa Ex Taq® *	: 1.25 U/25 μl
dNTP Mixture	: 2X conc. (0.4 mM each)
Ex Taq Buffer	: 2X conc. (includes 4 mM Mg^{2+})

*** Specifications of *TaKaRa Ex Taq* (Cat. #RR001)**

Unit definition :
One unit is the amount of enzyme that will incorporate 10 nmol of dNTPs into acid-insoluble products in 30 minutes at 74℃ with activated salmon sperm DNA as the template-primer.

Reaction mixture for unit definition :

25 mM	TAPS (pH 9.3 at 25℃)
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 activity was not detected after the incubation of 1 μg of supercoiled pBR322 DNA with 25 units of this enzyme for 1 hour at 74℃. Endonuclease and exonuclease activity were not detected after the incubation of 1 μg of λ DNA or λ-*Hin*d III digest with 25 units of this enzyme for 16 hours at 74℃.

Applications : For DNA amplification by PCR

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

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 μl) :

Premix Taq (*Ex Taq* Version 2.0)	25 μl
Template	< 500 ng
Primer 1	0.2 - 1.0 μM (final conc.)
Primer 2	0.2 - 1.0 μM (final conc.)
Sterile purified water	up to 50 μl

PCR conditions : Amplification of a 1 kb DNA fragment.

98℃	10 sec	] 30 cycles	or	98℃	10 sec	] 30 cycles
55℃	30 sec			68℃	1 min	
72℃	1 min					

(Note) Denaturation conditions vary depending on the thermal cycler and tubes used for PCR. Denaturation for 5 - 10 sec at 98℃ or 20 - 30 sec at 94℃ is recommended .

< 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 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 minutes before thermal cycling.
3) Set a thermal cycler with the designated program. *3
   * 3 PCR conditions do not need to be changed for Cool Start.
4) Set the tubes in a thermal cycler and start cycling immediately.

v201902Da

Premix Taq™ (*Ex Taq*™ Version 2.0)

Code No. RR003A　　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 Ex Taq＊	：1.25 U/25 μl
dNTP Mixture	：2 × conc.；各 0.4 mM
Ex Taq Buffer	：2 × conc.；4 mM Mg^{2+}を含む

＊：*TaKaRa Ex Taq*（製品コード RR001）

○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	$MgCl_2$
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
1. 25 U の本酵素と 1 μg の λ-*Hin*d 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

● 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。

●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のドキュメントセンターからダウンロードできます。

● PCR 反応例（total 50 μl）

Premix Taq (*Ex Taq* Version 2.0)	25 μl
Template	＜ 500 ng
Primer 1	0.2 ～ 1.0 μM (final conc.)
Primer 2	0.2 ～ 1.0 μM (final conc.)
滅菌精製水	up to 50 μl

● PCR 条件（例）：1 kb DNA を増幅する時

98℃ 10 sec.
55℃ 30 sec.　] 30 cycles　or
72℃ 1 min.

98℃ 10 sec.
68℃ 1 min.　] 30 cycles

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℃ 5 sec. ～ 10 sec.、あるいは 94℃ 20 sec. ～ 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。

v201902Da

タカラバイオ株式会社
ウェブサイト　http://www.takara-bio.co.jp

製品についての技術的なお問い合わせ先
テクニカルサポートライン
Tel　077-565-6999
Fax　077-565-6995