

PerfectShot™ *Ex Taq*™ (Loading dye mix)

Code No. RR005A Size: 25 μ l x 48
(for 48 PCR reactions)

Note :

Thaw vials of the required quantity just before use, since repeated freeze-thaw cycles reduce the enzyme activity.

Components :

<i>TaKaRa Ex Taq</i> ® *	: 1.25 U / 25 μ l
dNTP Mixture	: 2X conc.; ea. 0.4 mM
<i>Ex Taq</i> buffer	: 2X conc.; including 4 mM Mg ²⁺
Loading dye	: Orange G/Bromophenol Blue
Density reagent	

Note : Reaction mixture can be applied to gel electrophoresis directly after DNA amplification, since the specific gravity has been already adjusted.
TAE buffer should be used for electrophoresis of PCR products. If TBE buffer is used, samples might not be properly filled into wells.

* : Specification of *TaKaRa Ex Taq* (Cat. #RR001A)

<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°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	MgCl ₂
0.1 mM	DTT
200 μ M	each dATP · dGTP · dCTP
100 μ M	[³ H]-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.

Storage : -20°C

Applications : For DNA amplification by PCR

PCR products :

As most PCR products amplified with *TaKaRa Ex 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) :

PerfectShot <i>Ex Taq</i>	25 μ l
Template	< 500 ng
Primer 1	0.2 - 1.0 μ M (final conc.)
Primer 2	0.2 - 1.0 μ M (final conc.)
Sterile purified water	up to 50 μ l

PCR conditions (an example) : When amplifying of 1 kb DNA fragment:

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

Note : Denaturation conditions vary 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 >

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 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.

TaKaRa Ex Taq is a registered trademark of Takara Bio Inc.
PerfectShot and *Ex 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 +81 77 565 6973 or from our website at www.takara-bio.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.

PerfectShot™ Ex Taq™ (Loading dye mix)

Code No. RR005A 容量： 25 μ l \times 48
(48 回 PCR 反応分)

ご注意

凍結融解の繰り返しにより活性が低下しますので、必要本数
だけ融解してご使用ください。

●内容

TaKaRa Ex Taq*	: 1.25 U/25 μ l
dNTP Mixture	: 2 \times conc.; 各 0.4 mM
Ex Taq buffer	: 2 \times conc.; 4 mM Mg ²⁺ を含む
色素マーカー	: Orange G/Bromophenol Blue
比重増加剤	

注： DNA 増幅後、反応液をそのまま電気泳動ゲルにアプライする
ことができます。PCR 産物の電気泳動バッファーには、TAE バッ
ファーをお使いください。TBE バッファーを用いるとアプライ
したサンプルがウエルに入りにくい場合があります。

* : TaKaRa Ex Taq (製品コード RR001A)

<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°C 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°C)
50 mM	KCl
2 mM	MgCl ₂
0.1 mM	DTT
各 200 μ M	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 μ g の λ -Hind III 分解物を 74°C、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。
- 25 U の本酵素と 1 μ g の supercoiled pBR322 DNA を 74°C、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。
- 25 U の本酵素と 1 μ g の λ DNA を 74°C、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。

●保存 - 20°C

●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 μ l PCR)

PerfectShot Ex Taq	25 μ l
Template	< 500 ng
Primer 1	0.2 ~ 1.0 μ M (final conc.)
Primer 2	0.2 ~ 1.0 μ M (final conc.)
滅菌精製水	up to 50 μ l

●PCR 条件 (例) : 1 kb DNA を増幅する時

98°C 10 sec.] 30 cycles or	98°C 10 sec.] 30 cycles
55°C 30 sec.		68°C 1 min.	
72°C 1 min.			

注： 変性条件は、使用機種と反応チューブの種類に合わせて設定する。
設定の目安は、98°C 5 ~ 10 sec.、あるいは 94°C 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】

- 試薬をすべて氷上に置く。
- 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 分たつて
から反応しても問題はない。)
- 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。)
- 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。