



Code No. TAP-319E, 329E, 359E
 TAP-319GF, 329GF, 359GF
 QPK-1BS, 1B1, 1B2
 QPK-2BS, 2B1, 2B2
 保存温度 -20°C

PCR 用酵素・Buffer

rTaq DNA Polymerase Hot Start

rTaq DNA Polymerase Hot Start <Glycerol Free>

10×Buffer for Taq Hot Start

2.5×Buffer for Taq Hot Start <Glycerol Free> Stabilizer plus

rTaq DNA Polymerase Hot Start 及び、rTaq DNA Polymerase Hot Start <Glycerol Free>は、Taq DNA Polymerase に抗 Taq 抗体が混合されたものです。抗 Taq 抗体により PCR 反応前の常温下での Polymerase 活性を抑制しており、特異性の高い Hot Start PCR に使用できます。rTaq DNA Polymerase Hot Start <Glycerol Free>については組成に Glycerol が含まれないため、凍結乾燥試薬の原料として利用できます。

10×Buffer for Taq Hot Start は、rTaq DNA Polymerase Hot Start 及び、rTaq DNA Polymerase Hot Start <Glycerol Free>用の 10×濃度の反応溶液です。Glycerol を含まないため、凍結乾燥試薬の原料として利用できます。

2.5×Buffer for Taq Hot Start <Glycerol Free> Stabilizer plus は、上記 10×Buffer for Taq Hot Start に凍結乾燥用の賦形剤が添加された 2.5×濃度の反応溶液です。安定化剤の検討なしで凍結乾燥試薬の調製が可能です。

特長

● 高速ホットスタート

抗 Taq 抗体を用いたホットスタートシステムを採用しています。抗体を用いたホットスタートは非特異反応の抑制に強力な効果を示し、また、加熱によって速やかに抗体が失活するため、酵素の再活性化も迅速であり、酵素への高温によるダメージを最小限に抑えることができます。

● 凍結乾燥試薬が調製可能

凍結乾燥を妨げる Glycerol を含まないため、凍結乾燥用試薬の原料として利用できます。

● 凍結乾燥用に安定化剤の検討不要

rTaq DNA Polymerase Hot Start <Glycerol Free>と組み合わせて 2.5×Buffer for Taq Hot Start <Glycerol Free> Stabilizer plus を使用することで安定化剤の検討なしで凍結乾燥試薬の調製が可能です。

A6649K

1. 内容物

品名	TAP-319E	TAP-329E	TAP-359E
rTaq DNA Polymerase Hot Start	1 KU (0.2 mL) × 1 本	10 KU (2 mL) × 1 本	100 KU (20 mL) × 1 本

Taq DNA Polymerase とホットスタート用抗体を含む酵素溶液です。5 U/ μ L の濃度に調製されています。

品名	TAP-319GF	TAP-329GF	TAP-359GF
rTaq DNA Polymerase Hot Start <Glycerol Free>	1 KU (0.2 mL) × 1 本	10 KU (2 mL) × 1 本	100 KU (20 mL) × 1 本

Taq DNA Polymerase とホットスタート用抗体を含む酵素溶液です。5 U/ μ L の濃度に調製されています。組成に Glycerol が含まれないため、凍結乾燥試薬の原料として利用できます。

品名	QPK-1BS	QPK-1B1	QPK-1B2
10×Buffer for Taq Hot Start	2 mL × 1 本	20 mL × 1 本	200 mL × 1 本

緩衝剤、塩類、MgCl₂を含む、10×濃度の反応溶液です。dNTP、酵素は含まれておりません。dNTPs、酵素、プライマー、鋳型 DNA を加え、滅菌水などで 1×濃度に調製して使用してください。凍結乾燥試薬を調製する場合は別途、賦形剤の添加が必要です。

品名	QPK-2BS	QPK-2B1	QPK-2B2
2.5×Buffer for Taq Hot Start <Glycerol Free> Stabilizer plus	8 mL × 1 本	80 mL × 1 本	800 mL × 1 本

緩衝剤、塩類、MgCl₂を含む、2.5×濃度の反応溶液です。dNTP、酵素は含まれておりません。dNTPs、酵素、プライマー、鋳型 DNA を加え、滅菌水などで 1×濃度に調製して使用してください。凍結乾燥用の賦形剤が含まれており、安定化剤の検討なしで凍結乾燥試薬を調製できます。

2. 安全上の注意

本製品の使用にあたっては、実験室での一般の注意事項を厳守し、安全に留意してください。関係する実験において、人体に有害な試薬を扱う場合も予想されます。各試薬に添付されている注意書き、機器・器具に添付されている取扱説明書の指示を順守し、必要に応じて適切な保護具をご使用になりますようお願いいたします。

※登録商標または商標は各所有者に帰属します。

3. 反応液の調製・反応条件

- ・凍結している試薬は完全に融解してからご使用ください。
- ・反応液を調製する前に各試薬を十分混合してからご使用ください。

- (1) rTaq DNA Polymerase Hot Start、10×Buffer for Taq Hot Start を用いた PCR 試薬調製例(20 μL 反応)

試薬の調製例

Components	Volume	Final Concentration
10×Buffer for Taq Hot Start	2 μL	1×
2 mM dNTPs	2 μL	0.2 mM
PCR Forward Primer (10 μM)	0.6 μL	0.3 μM
PCR Reverse Primer (10 μM)	0.6 μL	0.3 μM
TaqMan® Probe (10 μM)	0.4 μL	0.2 μM
rTaq DNA Polymerase Hot Start	0.2 μL	1 U
Template DNA (Sample)	X μL	
Autoclaved, distilled water	to 20 μL	

全ての液を添加した後、反応液を十分混合してからサーマルサイクラーにセットしてください。

dNTPs は別売しております。関連製品をご参照ください。

2.5×Buffer for Taq Hot Start <Glycerol Free> Stabilizer plus を使用する場合は、20 μL 反応液に 8 μL を添加してください(最終濃度を 1×にしてご使用ください)。

プライマーの添加量は各々最終濃度 0.2~0.6 μM、TaqMan® プローブの添加量は最終濃度 0.05~0.3 μM を目安にご検討ください。増幅効率がよくない場合、添加量を増やすことによりパフォーマンスが向上する場合がありますが、逆に入れすぎると非特異反応の原因となり、検出感度が低下する場合があります。

増幅効率がよくない場合、酵素量を増減させることにより改善する場合があります(0.25~5 U)。

PCR 反応サイクル例

Pre-denaturation :	95°C, 1 min.	
Denature :	95°C, 15 sec.	← 40~50 cycles
Annealing/ extension :	60°C, 45 sec.	

Annealing/ Extension の温度は、55~65°C の範囲で検討いただくと検出感度等が改善する場合があります。

- (2) rTaq DNA Polymerase Hot Start、10×Buffer for Taq Hot Start
を用いた RT-PCR 試薬調製例 (20 μL 反応)

試薬の調製例

Components	Volume	Final Concentration
10×Buffer for Taq Hot Start	2 μL	1×
2 mM dNTPs	2 μL	0.2 mM
PCR Forward Primer (10 μM)	0.6 μL	0.3 μM
PCR Reverse Primer (10 μM)	0.6 μL	0.3 μM
TaqMan [®] Probe (10 μM)	0.4 μL	0.2 μM
rTaq DNA Polymerase Hot Start	0.2 μL	1 U
ReverTra Ace [®] 希釈液 (1 U/μL)	0.3 μL	0.3 U
Template RNA (Sample)	X μL	
Autoclaved, distilled water	to 20 μL	

全ての液を添加した後、反応液を十分混合してからサーマルサイクラーにセットしてください。

ReverTra Ace[®] 希釈液 (1 U/μL)は、ReverTra Ace[®] (100 U/μL) (別売)を希釈 Buffer (20mM Tris-HCl (pH7.5)、100 mM NaCl、0.1 mM EDTA、1mM DTT、0.01% Nonidet[™] P-40、50% Glycerol)で100倍希釈することで調製して下さい。希釈時の過度なボルテックスは酵素の失活に繋がりますのでご注意下さい。希釈液は用時調製とし、余った希釈液は廃棄してください。

2.5×Buffer for Taq Hot Start <Glycerol Free> Stabilizer plusを使用する場合は、20 μL 反応液に8 μLを添加してください(最終濃度を1×にしてご使用ください)。

RNase Inhibitor(別売)を1~40 U (/20 μL 反応液)添加することで、RNAの安定性を向上させることができます。サンプルにRNaseが含まれる場合や反応液を長時間保存する場合、RNase Inhibitorの添加を推奨します。

プライマーの添加量は各々最終濃度0.2~0.6 μM、TaqMan[®] プローブの添加量は最終濃度0.05~0.3 μMを目安にご検討ください。増幅効率がよくない場合、添加量を増やすことによりパフォーマンスが向上する場合がありますが、逆に入れすぎると非特異反応の原因となり、検出感度が低下する場合があります。

増幅効率がよくない場合、酵素量を増減させることにより改善する場合があります(ReverTra Ace[®] : 0.05~1 U、rTaq DNA Polymerase Hot Start : 0.25~5 U)。

RT-PCR 反応サイクル例

Reverse transcription :	42°C, 15 min.	
Pre-denaturation :	95°C, 5 min.	
Denature :	95°C, 15 sec.	← 40~50 cycles
Annealing/ extension :	60°C, 45 sec.	

Annealing/ Extension の温度は、55~65°C の範囲で検討いただくと検出感度等が改善する場合があります。

- (3) rTaq DNA Polymerase Hot Start <Glycerol Free>、
2.5×Buffer for Taq Hot Start <Glycerol Free> Stabilizer plus を用いた
凍結乾燥 PCR 試薬調製例 (20 μL 反応)

試薬の調製例

Components	Volume	Final Concentration
2.5×Buffer for Taq Hot Start <Glycerol Free> Stabilizer plus	8 μL	1×
2 mM dNTPs	2 μL	0.2 mM
PCR Forward Primer (10 μM)	0.6 μL	0.3 μM
PCR Reverse Primer (10 μM)	0.6 μL	0.3 μM
TaqMan® Probe (10 μM)	0.4 μL	0.2 μM
rTaq DNA Polymerase Hot Start <Glycerol Free>	0.2 μL	1 U
Autoclaved, distilled water	to 20 μL	

全ての液を添加した後、反応液を十分混合してから凍結乾燥機にセットしてください。

10×Buffer for Taq Hot Start を使用して凍結乾燥する場合は、賦形剤の添加が必要です。dNTPs は別売しております。関連製品をご参照ください。

プライマーの添加量は各々最終濃度 0.2~0.6 μM、TaqMan® プローブの添加量は最終濃度 0.05~0.3 μM を目安にご検討ください。増幅効率がよくない場合、添加量を増やすことによりパフォーマンスが向上する場合がありますが、逆に入れすぎると非特異反応の原因となり、検出感度が低下する場合があります。

増幅効率がよくない場合、酵素量を増減させることにより改善する場合があります (0.25~5 U)。

凍結乾燥サイクル例

Freezing:	25°C to -45°C	70 min. (1°C / min.)
	-45°C	240 min.
Primary drying:	-45°C to -30°C	60 min. (0.25°C / min.)
	-30°C	600 min.
Secondary drying:	-30°C to 20°C	50 min. (1°C / min.)
	20°C	360 min.

反応液のガラス転移温度は約-30°C です。Primary drying(一次乾燥)の温度は-25~-35°C でご検討ください。

凍結乾燥の条件は、凍結乾燥する試薬の量や用いる凍結乾燥機等で変わります。上記は一例であり、お客様の実施条件で検討することを推奨します。

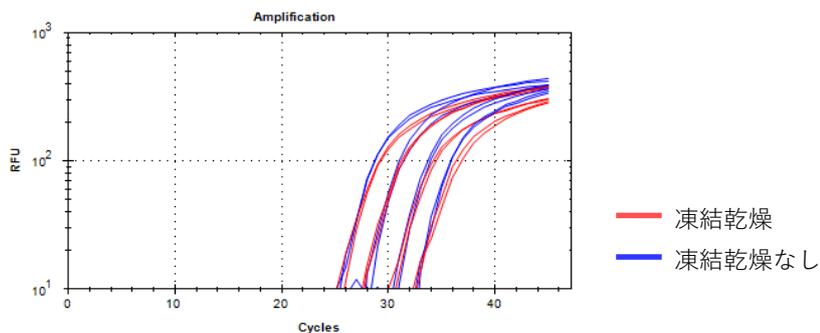
凍結乾燥後の試薬は吸湿しやすいため、乾燥剤存在下にて保存してください。

凍結乾燥品を使用する場合は、乾燥ケーキを鋳型 DNA を含む溶液で容量が 20 μL になるように溶解し、十分混合してからサーマルサイクラーにセットしてください。反応サイクルは(1)の調製例をご参照ください。

4. 実施例

rTaq DNA Polymerase Hot Start <Glycerol Free>、2.5×Buffer for Taq Hot Start <Glycerol Free> Stabilizer plus を用い凍結乾燥 PCR 試薬を調製し、TaqMan プローブで赤痢菌 DNA(2,000、400、80、16 copies)を検出しました。凍結乾燥なしでも同様の検出を行い比較した結果、いずれも 16 コピーが検出でき、凍結乾燥を実施しても反応に影響がないことが確認されました。

copies	凍結乾燥		凍結乾燥なし	
	検出	検出	検出	検出
2000	25.8	25.6	26.1	26.3
400	27.9	27.9	28.9	28.5
80	30.7	30.5	31.5	31.1
16	33.2	32.3	33.3	33.3
NTC	N/A	N/A	N/A	N/A
Slope	-3.40		-3.42	
PCR効率	96.7%		96.1%	
R ²	0.998		0.997	



5. 関連商品

品名	包装	Code No.
<核酸増幅基質> dNTPs Mixture (A, C, G, T each 2mM) dNTPs Mixture (A, C, G, T each 10mM) dNTPs Mixture (A, C, G, U each 2mM)	1 mL × 1 本 0.2 mL × 1 本 1 mL × 1 本	NTP-201 NTP-301 NTP-501
<パッシブリアフェレンス> 50×ROX reference dye	5 mL × 1 本	ROX-101
<高効率逆転写酵素> ReverTra Ace [®]	10,000U × 1 本 (10,000U × 1 本) × 5 (10,000U × 1 本) × 10	TRT-101 TRT-101X5 TRT-101X10
<RNase 阻害剤> RNase Inhibitor, Recombinant	2,500 U × 1 本 100,000 U × 1 本 1,000,000 U × 1 本	SIN-201 SIN-229 SIN-259

TOYOBO

【製造・販売元】

—価格・在庫に関するお問い合わせ—

東洋紡株式会社 バイオプロダクト営業部 (大阪)
〒530-0001 大阪府大阪市北区梅田一丁目13番1号
大阪梅田ツインタワーズ・サウス

TEL 06-6348-3786 FAX 06-6348-3833

E-mail : order_lifescience@toyobo.jp

東洋紡株式会社 バイオプロダクト営業部 (東京)
〒104-8345 東京都中央区京橋一丁目 17 番 10 号 住友商事京橋ビル

TEL 03-6887-8819 FAX 03-6887-8951

E-mail : order_lifescience@toyobo.jp

TOYOBO

<製品の内容・技術に関するお問合せ>

東洋紡 (株) バイオプロダクト営業部 テクニカルライン
TEL 06-6348-3888 FAX 06-6348-3833

開設時間 9:00~12:00, 13:00~17:00 (土日祝日、休日を除く)

E-mail: tech_osaka@toyobo.jp

[URL] <https://lifescience.toyobo.co.jp/>