

Dyne Taq-*multi* HOT

Cat. No.	용량	농도
DYP1380	250 units	5 units/μl
DYP1382	500 units	5 units/μl

◆ 제품구성

Dyne Taq-*multi* HOT
Dyne 10X n-Taq-HOT buffer
dNTP Mixture (2 mM each)
GC Melt I
GC Melt II
Sterile water

◆ 보관온도

· -20°C

◆ 품질관리

· 순도: >99% on SDS-PAGE
· Endonuclease-free
· Exonuclease-free
· RNase-free
· Inhibitor-free

◆ 제품특징

· 분자량: 94 kD
· 오차율: 2.4×10^{-5}
· 열안전성: 활성 반감은 95°C, 40분이다.
· 증폭된 DNA의 3' 말단에는 A-tail이 형성된다.
· 75°C 이하 온도에서 활성은 없으며, 활성화를 위해 95°C 열처리를 해야한다.

◆ 응용분야

· 3 kb 이하의 DNA 증폭
· cDNA와 genomic DNA의 증폭
· PCR 반응을 저해하는 2차 이상 구조의 주형 DNA 증폭
· 상온에서 증폭한 PCR 반응물을 이용하는 자동화 PCR 기기에 최적합
· Primer extension
· Multiplex PCR

◆ 제품설명

· Dyne Taq-*multi* HOT 은 75°C 이하 온도에서 불활성화된 hot start PCR polymerase이다. 따라서, Dyne Taq-*multi* HOT 의 활성화를 위해 열활성화 단계가 필요하며, 이 단계는 PCR 반응 중 변성단계에서 이루어지므로 Dyne Taq-*multi* HOT은 PCR 반응이 시작한 뒤에만 활성화 한다. Dyne Taq-*multi* HOT을 이용하면 PCR 반응 시작 전 비특이적 반응을 효과적으로 저해하여, 표적 DNA 증폭의 정확성과 효율성이 증가한다. Dyne Taq-*multi* HOT 은 한 tube에서 20개 까지 서로 다른 주형 DNA 를 증폭할 수 있다. 본 제품은 유전자 진단과 연관된 genotyping 연구와 일반적인 multiplex PCR에 이용가능하다.

◆ Unit정의

· 1 unit 은 50 μl 반응물에 74°C에서 30분간 10 nmol dNTP를 불용성 산성물질 (acid insoluble materials)로 변환하기 위해 필요한 효소의 양이다 (20 mM Tris-HCl/pH 8.8, 50 mM KCl, 2.5 mM MgCl₂, 10 mM β-mercaptoethanol, 12.5 μg of calf thymus DNA).

◆ 보관용액

· 20 mM Tris-HCl (pH 7.9), 100 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 0.5% NP-40, 0.5% Tween-20, 50% glycerol

◆ 10X Dyne Taq-*multi* HOT buffer

· Containing 15 mM MgCl₂

◆ GC Melt I 과 GC Melt II

· 본 용액은 GC 비율이 높은 서열의 DNA 증폭을 하거나 혹은 비특이적 반응의 증폭을 줄일때 사용한다(단, PCR 효율을 감소시킬 수 있다.)
· 일반적으로 PCR 반응 시 10X 용액을 희석하여 1X 농도로 사용하나 최적화하기 위해 첨가량을 조절해야 한다.

◆ 사용시 주의 사항

· Dyne Taq-*multi* HOT을 사용할 시, 효소의 효과적인 활성을 위해 10분간 초기 변성단계가 필요하다.

◆ 표준반응조건

- PCR mixture

Dyne 10X Taq- <i>multi</i> HOT buffer	2 μ l
Dyne Taq- <i>multi</i> HOT DNA Polymerase ^a (5 units/ μ l)	0.2 μ l
dNTP mixture (2 mM each, final conc., 200 μ M each)	2 μ l
Template DNA ^d (0.1~500 ng/ μ l)	1 μ l
Primer 1 (5 pmoles/ μ l)	1 μ l
Primer 2 (5 pmoles/ μ l)	1 μ l
Sterile water	up to 20 μ l

^a PCR polymerase 는 마지막 단계에서 첨가한다.

^b Plasmid DNA, 0.1 ng~30 ng; genomic DNA, 50 ng~500 ng

- PCR cycles

Initial denaturation	95°C	10 min
Denaturation	95°C	30 sec
Annealing ^a	55°C	30~60 sec
Elongation	72°C	1 min/kb
Number of cycles	25~35 times	
Final elongation	72°C	5 min

PCR 종료 후 4°C를 유지하거나, DNA 분해를 막기 위해 10 mM EDTA를 첨가한다.

^a Initial denaturation 단계에서 최소 10분 이상 반응시켰을 때 Taq-*multi* HOT은 최대 활성을 유지한다

^b Annealing 온도는 사용하는 primer의 T_m보다 5~10°C 낮게 설정할 것을 추천한다.