

Dyne Taq-Rb High HOT

Cat. No.	용량	농도
DYP1740	250 units	5 units/μl
DYP1742	500 units	5 units/μl

◆ 제품구성

- Dyne RbTaq HOT
- Dyne 10X RbTaq HOT Buffer
- dNTP Mixture (2 mM each)
- GC Melt I
- GC Melt II
- Sterile water

◆ 제품특징

- 분자량: 94 kDa
- 오차율: 3.0 X 10⁻⁶
- 열안정성: 95°C, 40분 조건에서 활성이 반감된다.
- 증폭된 DNA의 3' 말단에는 A-tail이 형성된다.

◆ 응용분야

- 긴 DNA 단편 증폭(≤10 kb)
- High complexity DNA template
- Primer extension
- Colony PCR

◆ 제품설명

· Dyne RbTaq HOT은 hot-start와 중합반응 교정이 보완된 Taq DNA polymerase의 변이종이다. PCR이 진행되는 동안 효소는 rebody에 의해 비활성화 되어있다가 denaturation 과정에서 활성 된다. 이 효소는 PCR 사이클이 시작되기 전에 낮은 온도에서 비특이적 primer extension을 하지 않기 때문에 비특이적 증폭을 방지하고 PCR의 특이성과 효율을 증가시킨다. 이 효소는 Dyne Taq-High(DYP1270, DYP1272)와 같이 중합 교정 및 PCR 강화 활성을 가지고 있기 때문에 10kb까지 긴 DNA 증폭이 가능하고 오류율을 2배 감소시킨다.

◆ 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

◆ 표준반응조건

- PCR mixture^a

Dyne 10X RbTaq HOT Buffer	2 μl
Dyne RbTaq HOT ^b (5units/μl)	0.2 μl
dNTP mixture (0.2 mM each)	2 μl
Template DNA ^c (0.1~500 ng/μl)	1 μl
Primer 1 (5 pmoles/μl)	1 μl
Primer 2 (5 pmoles/μl)	1 μl
Sterile water(RNase free)	up to 20 μl

^a 반응물 혼합은 얼음상에서 수행한다.

^b PCR polymerase는 마지막 단계에서 첨가한다.

^c Plasmid DNA, 0.1 ng-30 ng; genomic DNA, 50 ng-500 ng

- PCR cycles

Step	Temp.	Time	cycles
Initial denaturation ^a	95°C	3 min	1
Denaturation	95°C	30 sec	25~35
Annealing ^b	55~65°C	30-60 sec	
Elongation	72°C	1 min/kb	
Final elongation	72°C	5 min	1

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

a : 효소 활성을 위해 cDNA의 경우 95°C 30초, gDNA의 경우 95°C 3분을 권장한다.

b : Annealing 온도는 사용하는 primer의 T_m 보다 5-10°C 낮게 설정할 것을 추천한다.