

Prime Taq DNA Polymerase

Product Name	Cat. No.	Size
Prime Taq DNA Polymerase	G-1000	250 Units X 1
	G-1001	250 Units X 2
	G-1002	250 Units X 4

Package Information

G-1000	1. Prime Taq DNA Polymerase (250 Units, 5 U/μl , 50μl X 1) 2. 10X Reaction buffer (with 20 mM MgCl ₂ , 1.0 ml X 1) 3. 10 mM dNTPs Mixture (2.5 mM each of dATP, dCTP, dGTP and dTTP. 0.5 ml X 1)
--------	--

Description

Prime Taq DNA Polymerase는 recombinant E.coli로부터 제넷바이오만의 고순도 enzyme 정제법을 통하여 정제된 DNA polymerase로써 DNA를 template로하여 5'→3' 방향으로 DNA를 합성할 수 있는 능력을 가지고 있습니다. Proof reading기능을 가지는 3'→5' exonuclease 활성이 거의 상실되어 있기 때문에 Pfu DNA Polymerase보다는 높은 error-rate를 나타냅니다. 일반적으로 Prime Taq DNA Polymerase를 이용하여 5 Kb이하의 PCR products를 무난하게 증폭할 수 있으며, 이렇게 증폭된 PCR products는 A-tailing이 되어 있어 T-vector cloning에 간편하게 사용하실 수 있습니다. 확인, 검출 PCR에 사용하는 가장 기초적인 Taq DNA polymerase로써, 다른 제조사 제품에 비하여 탁월한 검출 능력을 발휘하는 제품입니다. 제넷바이오만의 고유한 reaction buffer 조성으로 template DNA의 denaturation이 용이하게 됩니다. 그로 인해, primer의 annealing이 충분히 이루어지고, 제넷바이오만의 고순도 정제로 강력한 activity를 가진 Prime Taq DNA polymerase가 거침없이 중합을 해 나갑니다. 그 결과, 다른 제조사에 비해 PCR yield가 증가하고, 증폭하기 힘든 target들도 쉽게 증폭할 수 있습니다. 또한 웬만한 GC-rich부위도 다른 제조사 제품에 비해 손쉽게 증폭할 수 있습니다.

Buffers and Reagent

Storage Buffer

20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 100 mM KCl, 0.5 mM EDTA, 0.1 mM DTT, 0.5% Tween 20, 0.5% Nonidet P-40 and 50% Glycerol

10X Reaction Buffer

Contains Tris-HCl (pH 9.0), PCR enhancers, (NH₄)₂SO₄ and 20 mM MgCl₂

10 mM dNTPs Mixture

2.5 mM each of dATP, dCTP, dGTP and dTTP

Protocol

PCR 결과는 Taq DNA Polymerase의 사용량, reaction temperatures & times, primer specificity, 그리고 template DNA의 purity와 투입량 등에 의해서 달라질 수 있으며, 아래에 제시된 조건은 기본적으로 사용될 수 있는 방법입니다.

The following 20μl reaction volume can be used for PCR.

1. Thaw the 10X Reaction buffer and 10 mM dNTPs Mixture.
2. Prepare a mastermix.

Component	Volume	Final conc.
Sterilized D.W.	add up to 20μl	-
10X Reaction Buffer	2.0μl	1X
10 mM dNTPs Mixture	0.5~2.0μl	0.25~1.0 mM
Upstream Primer (10 pmoles/μl)	0.2~2.0μl	0.1~1.0 pmoles
Downstream Primer (10 pmoles/μl)	0.2~2.0μl	0.1~1.0 pmoles
Prime Taq DNA Pol. (5 units/μl)	0.1~0.2μl	0.5~1.0 unit
Template DNA	Variable	10 fg~1μg

★Amount of template DNA

Bacteriophage λ, cosmid, plasmid DNA: 10 fg~300 ng

Genomic DNA: 100 ng~1μg

3. Mix the mastermix and dispense appropriate volumes into PCR tubes. Centrifuge the PCR tubes in a microcentrifuge for 10 seconds.
4. Perform PCR using your standard parameters (3-step cycling).

Step	Temp. & Time		Cycles
	Temp.	Time	
Initial denaturation	95℃	3~5 min.	1
Denaturation	95℃	30 sec.	25~35
Annealing	x℃	30 sec.	
Extension	72℃	30~60 sec.	
Final Extension	72℃	5 min.	1

★for PCR products longer than 3~4Kb, use an extension time of approximately 1 min, per Kb DNA.

5. Separate the PCR products by agarose gel electrophoresis and visualize with EtBr or any other means.

★A DNA fragment which is amplified by Prime Taq DNA Polymerase has A-overhang, and it enables you to do cloning by using T-vector.

◆ Research Use Only

◆ Store at -20℃