

DNA free-Taq DNA Polymerase

From *Thermus aquaticus*, recombinant (*E. coli*)

Cat. No. DFT-500, DFT-1000, DFT-2500

Storage Temperature - 20°C

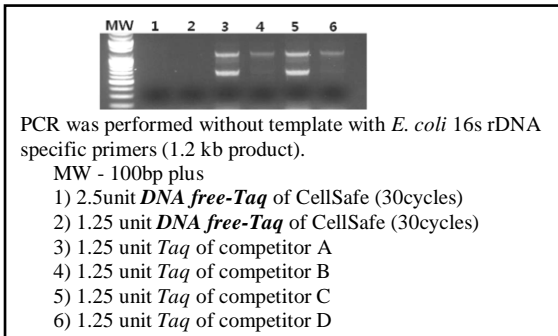
1. 제품 정보(Description)

DNA free-Taq DNA Polymerase 는 *Thermus aquaticus* Taq DNA Polymerase을 개량하여 *E. coli*에서 발현 시킨 후 CellSafe사에서 개발한 혁신적인 분리정제 시스템을 사용하여 plasmid DNA 와 *E. coli* genomic DNA을 제거한 제품입니다.

현재 판매되는 대부분의 Taq DNA Polymerase에 *E. coli* genomic DNA가 포함되어 있으며, 이 경우 PCR반응에서 여러 가지 문제를 일으킬 수 있습니다.

- 1) 비특이적인 side products 생성
- 2) Primer-dimer 형성 촉진
- 3) Multiplex PCR에서 false positive 유도
- 4) qPCR 반응시 Ct값 limit 제한 - 민감도 저하
- 5) 유전자 진단의 적용 제한
- 6) Cloning 시 잘못된 유전자 획득
- 7) Sequencing 시 염기해독의 오류

DNA free-Taq DNA Polymerase는 이러한 오류를 해결할 수 있는 제품으로 일반 PCR, multiplex PCR, qPCR등 다양한 실험에 적용하여 우수한 결과를 얻을 수 있는 제품입니다.



2. 제품 특징

- Source : *Thermus aquaticus*
- 5'→3' exonuclease activity : Yes
- 3'→5' exonuclease activity : No
- Amplification size : < 3 kb
- A-tailing : Yes

3. 제품 적용(Application)

- Routine PCR, multiplex PCR and qPCR
- Allele specific PCR
- 16S and 23S rRNA gene amplification
- Detection of bacteria in samples(e.g. blood)
- DNA labeling reactions & TA-cloning
- Sequencing / cycle sequencing

4. 제품 구성(Kit components)

| 제품 구성 | DFT-500 (500Unit) | DFT-1000 (1000Unit) | DFT-2500 (2500Unit) |
|---|-------------------|---------------------|---------------------|
| DNA free-Taq Polymerase (5 Unit/ μ l) | 100 μ l | 200 μ l | 500 μ l |
| DNA free dNTPs Mixture 10 mM (2.5 mM each) | 1 mL | 2 mL | 5 mL |
| 10X PCR Buffer with 25 mM MgCl ₂ | 1 mL | 3 mL | 7.5 mL |

5. Storage buffer:

20 mM Tris-HCl(pH 8.0), 100 mM KCl, 0.5 mM EDTA, 0.1 mM DTT, 50% Glycerol

6. Unit definition:

One unit is defined as the amount of enzyme that will incorporate 10 nM of dNTP into acid-insoluble products in 30 minutes at 75 °C.

7. 실험방법(Reaction protocol)

1) Reaction mixture(for 20 μ l or 50 μ l reaction)

| Reaction component | Volume | |
|-----------------------------|--------------------|------------------|
| Template* | 0.1 ng ~ 1 μ g | |
| 10X PCR buffer | 2 μ l | 5 μ l |
| DNA free-dNTPs mixture ** | 1.6 μ l | 4 μ l |
| Forward primers | 1~5 pmole | |
| Reverse primers | 1~5 pmole | |
| DNA free-Taq DNA polymerase | 1 ~ 2.5 unit | |
| DNase free water | up to 20 μ l | up to 50 μ l |

* For genomic DNA template, 10 ng ~ 1000 ng

For plasmid DNA, 0.1 ng ~ 15 ng

** Repeat thawing of dNTPs may cause poor PCR reaction.

2) PCR 반응 조건

| Step | Temperature | Time | # of cycles |
|-----------------------|-------------|----------------|-------------|
| Initial denaturation* | 95°C | 5 min | 1 |
| Denaturation | 95°C | 30 sec | 25~35 |
| Annealing** | 55~65 °C | 30 sec | |
| Extension | 72°C | 30 sec ~ 2 min | |
| Final elongation | 72°C | 5~10 min | 1 |
| Cooling | 4°C | Unlimited time | 1 |

* The denaturation temperature can vary from 92°C~95°C.

** Optimal annealing temperature depends on the melting temperature of the primers and on the system used.

3) 5X Band Optima

증폭할 부위의 GC 함량이 높거나 복잡한 secondary 구조를 가지고 있어 증폭이 어려운 경우 5X Band Optima 를 추가구매 하여 사용할 수 있습니다.

8. 관련 제품

| | |
|-----------------------------------|---------|
| PCR Master Mix | |
| DNA free-Taq Master Mix, 5 ml | DFTM-5 |
| DNA free-HotTaq Master Mix, 5 ml | DFHM-5 |
| SafeDry Taq PCR Premix | |
| SafeDry Taq PCR Premix (96 tube) | LTP-96 |
| SafeDry Taq PCR Premix (480 tube) | LTP-480 |