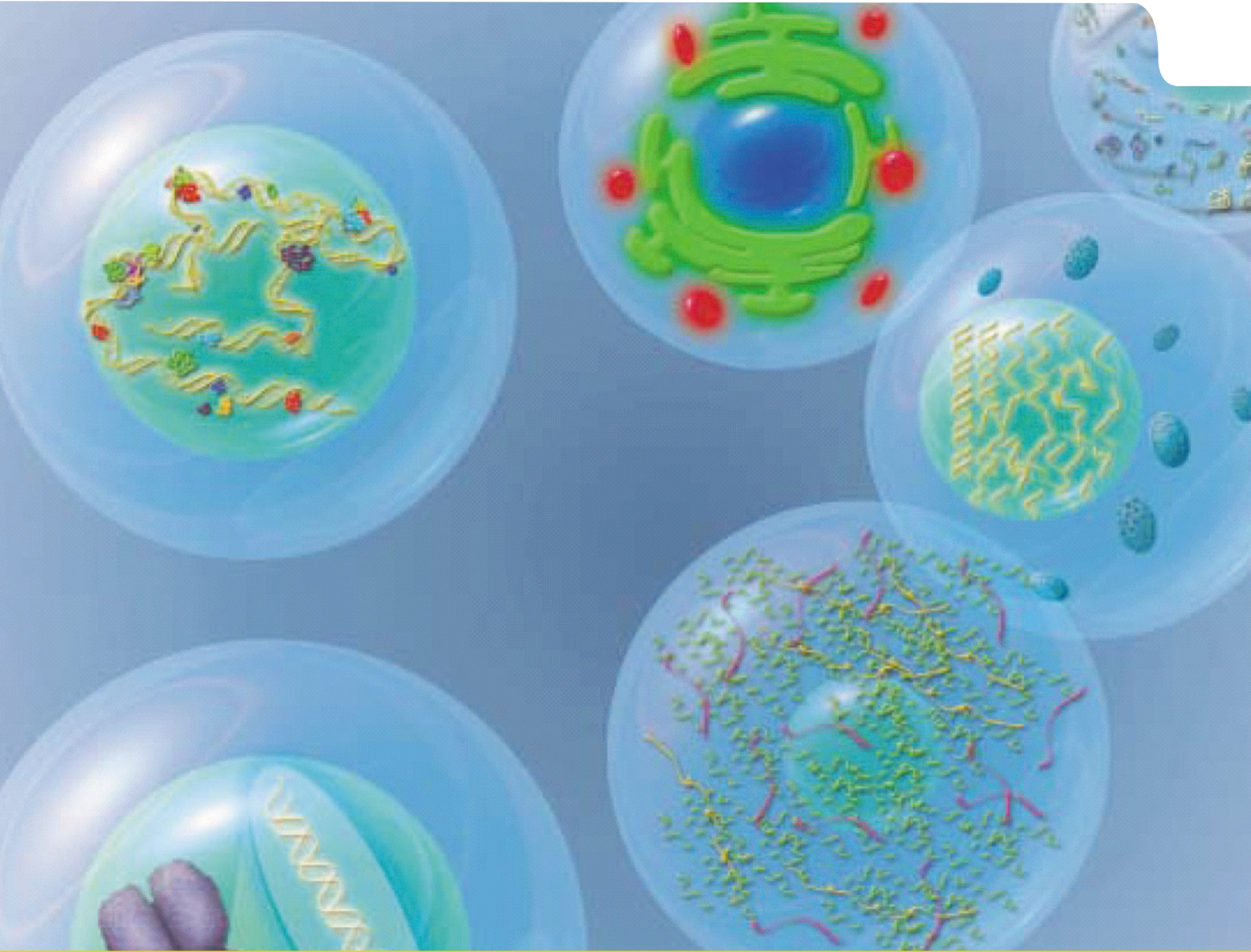


“2005년 9월 1일”

Clontech는 Takara의 새로운 가족입니다.



Clontech은 gene discovery, regulation, function과 관련한 다양한 제품을 공급합니다.

또한 gene expression analysis, subcellular localization, apoptosis, signal transduction 연구에 필수적인 30여개의 특허를 보유하고 있습니다.

Clontech은 전세계 최초 상업적인 antibody microarray를 소개하여 한번의 실험으로 수백개의 cellular protein을 연구하는 유용한 Tool을 제공하고 있습니다.

Clontech은 fluorescent proteins, apoptosis detection systems, cDNA arrays, tet-regulated gene expression systems, retroviral expression systems로 정평있는 R&D 100 awards를 수상한 바 있습니다.

TaKaRa

Clontech-Product-at-a-Glance

Gene Identification

Use gene expression arrays to identify up and down-regulated genes

Choose from a wide range of PCR and RT-PCR products to meet your experimental conditions

Confirm an individual gene's expression, determine where else it is expressed, and at what level

Profile gene expression among tumor and normal samples

► cDNA and Oligo Arrays

► Tissue Expression Profiling

► PCR & RT-PCR

Gene Expression

Quantify nucleic acid by performing quantitative PCR (qPCR) experiments

Control expression and observe effects of "on" and "off" states

Use adenoviral systems to efficiently deliver your gene of interest to target cells and express at high levels

Ready your gene for easy and rapid transfer to expression systems

Choose from a variety of protein and nucleic acid isolation formats which provide optimal efficiency and yield

► PCR Cloning

► Viral and Inducible Expression

► qPCR

► Nucleic Acid & Protein Purification

Gene Function

Silence target genes and study effects of suppression

Compare protein abundances using antibody microarrays

Use fluorescent proteins to show cellular localization and promoter activity

Identify protein:protein or protein:DNA interactions

Study cell signaling pathways or apoptosis

► RNAi Products

► Signal Transduction and Apoptosis

► Fluorescent Proteins

► Antibody Microarrays

► Yeast Hybrid Systems

Clontech

a TAKARA BIO company

최고급 PCR 효소가 Takara로 부터



High Fidelity ↑

High Amplification ↑

PrimeSTAR™



HS DNA Polymerase

출시! 

1. 높은 정확도
2. 높은 증폭효율
3. Library에서 cloning에 최적
4. 비특이적 증폭을 최소화한 Hot Start PCR
5. 5초만에 Annealing

NEW

High Fidelity PCR 효소의 결정판

PrimeSTAR™ HS DNA Polymerase

TaKaRa Code R010A

250 U

TaKaRa Code R010B(A×4)

1000 U

PrimeSTAR™ HS DNA Polymerase는 당사가 독자적으로 개발한 DNA polymerase로 매우 높은 정확성과 뛰어난 증폭 효율을 가진다. 본 효소는 매우 강한 3' → 5' exonuclease 활성을 가져, PCR 증폭 시 높은 proofreading 기능을 가지며, *Taq* DNA Polymerase 보다 뛰어난 증폭 효율을 나타낸다. 상온에서 DNA Polymerase 활성 및 3' → 5' exonuclease 활성을 억제하는 monoclonal Ab가 첨가되어 있어 PCR 반응 전의 miss-priming이나 primer의 digestion을 방지하여 높은 반응 특이성을 나타내고, 높은 priming 효율을 가지고 있어, annealing 시간을 짧게 설정할 수 있어 기존 제품에 비하여 반응시간이 대폭 단축되었다. 최적화된 PrimeSTAR Buffer를 이용하고 있으며, 다양한 template에서 High Fidelity, 고감도, 고 특이성, 높은 성공율로 증폭이 가능하다.

- ☆ 1. 세계 최고수준의 높은 fidelity: 0.0048%의 error
- ☆ 2. High-Fidelity PCR 효소 중 가장 높은 증폭 효율
- ☆ 3. Library로부터의 cloning에 최적
- ☆ 4. 항체를 첨가한 Hot Start PCR
- ☆ 5. 높은 priming 효율

Kit의 내용(200회)

PrimeSTAR HS DNA Polymerase(2.5 U/ μ l)	100 μ l
5× PrimeSTAR Buffer (Mg ²⁺ plus)*(5 ×)	1 ml × 2
dNTP Mixture(2.5 mM each)	800 μ l

* Mg²⁺ 농도: 5 mM(5×)

특징

1. 정확성

GC rich한 *Thermus thermophilus* HB8 genomic DNA를 주형으로 임의로 선택한 8 영역(증폭 사이즈는 각각 약 500 bp)을 PCR로 증폭하고 vector에 클로닝 한 후, 각 서열에 대해 복수 클론을 선택하고 sequencing

하여 mutation frequency를 조사하였다.

그 결과, PrimeSTAR HS DNA Polymerase는 *Taq* DNA Polymerase와 비교해서 10배 이상의 높은 fidelity를 나타내고, A사 High Fidelity 효소에 비해 동등 이상의 fidelity를 나타내었다.

이 방법은, 실제의 PCR에 가장 최적인 Fidelity를 계산하는 방법으로, 고도의 정확도가 요구되는 실험에 사용하면 좋은 결과를 얻을 수 있다.

2. 높은 증폭효율

① 타사의 높은 fidelity형 효소와 비교시 증폭 효율이 높다.

: Human DCLRE1A유전자(2 kbp)를 target으로 증폭하여, 각사의 High-Fidelity PCR 효소와 *rTaq*과 증폭효율을 비교하였다.

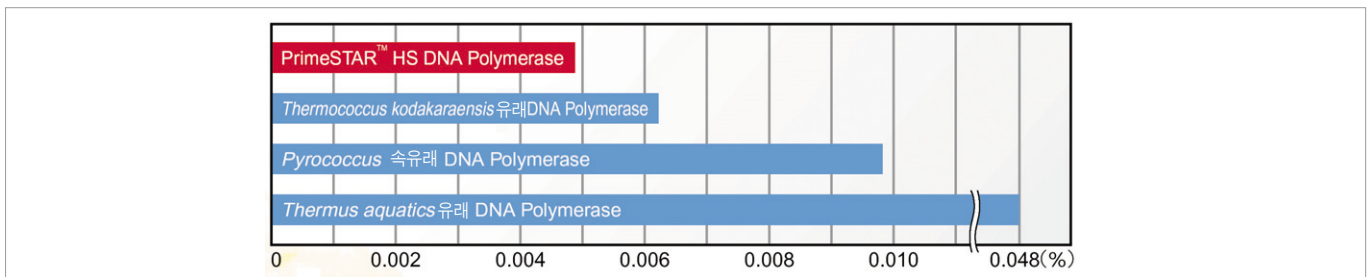


그림 1 PrimeSTAR™ HS DNA Polymerase와 각종 PCR효소와의 정확도 비교

*PrimeSTAR HS로 증폭한 경우 실제로 해석한 249,941 base당 12 base의 mis-match를 나타내었다.

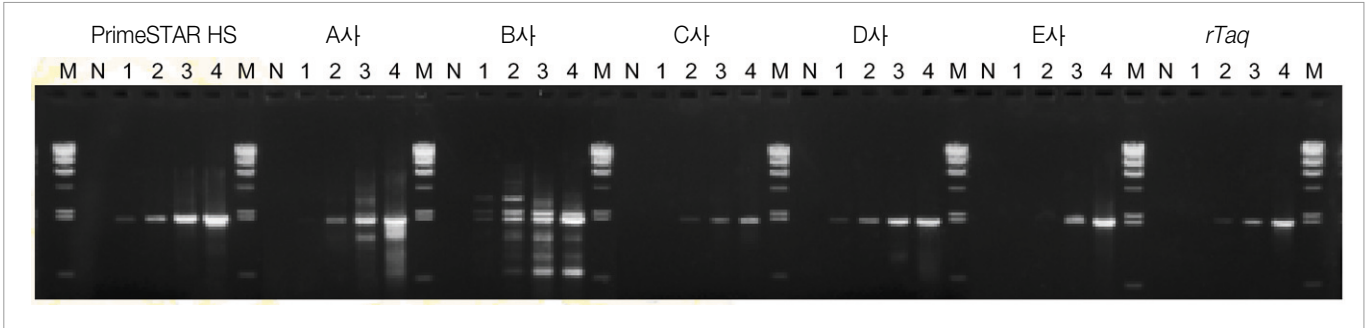


그림 2 PrimeSTAR™ HS DNA Polymerase와 각종 PCR효소와 rTaq의 증폭효율 비교
 Template : Human genomic DNA 1 : template양 100 pg 2 : template양 1ng
 Target : human DCLRE1A gene 2kbp 3 : template양 10ng 4 : template양 100ng
 반응액조성 및 PCR 조건 : 표준 protocol loading 양 : 3μl

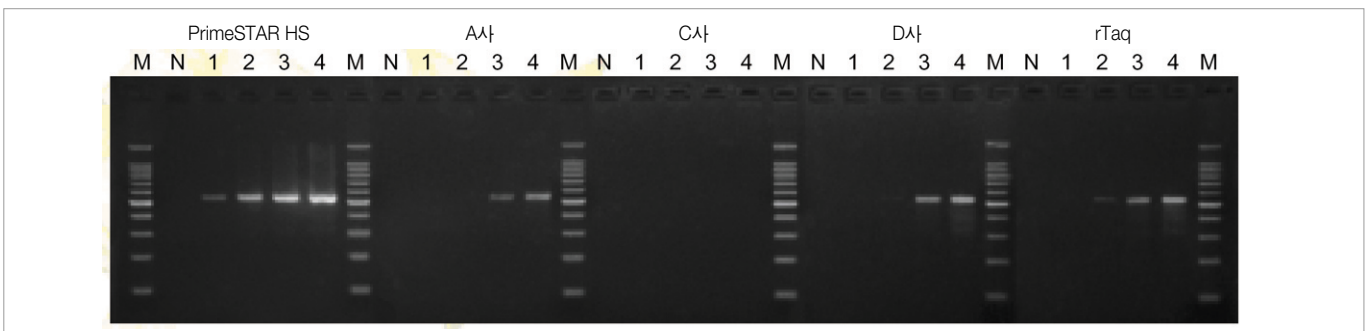


그림 3 GC rich target의 증폭효율 비교
 Template : *Thermus thermophilus* genomic DNA 1 : template양 10pg 2 : template양 100pg
 Target : 537bp (GC함량 약70%) 3 : template양 1ng 4 : template양 10ng
 반응액조성 및 PCR 조건 : 표준 protocol Loading 양 : 3μl

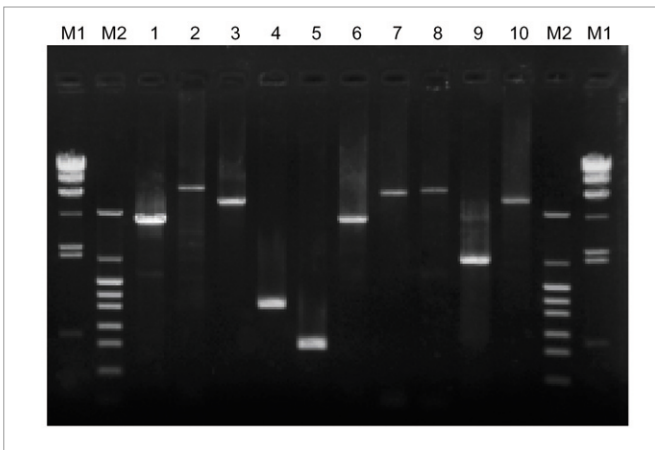


그림 4 PrimeSTAR™ HS DNA Polymerase를 이용한 다양한 길이의 target 증폭
 M1 : λ-HindIII M2 : pHY Marker 1 : DCLRE1A(4kbp)
 2 : β-globin(8.5kbp) 3 : β-globin 6 kbp 4 : DCLRE1A 1kbp
 5 : p53(0.5kbp) 6 : p53(4kbp) 7 : β-globin 7.5kbp
 8 : DCLRE1A 8 kbp 9 : DCLRE1A(2kbp) 10 : p53(6kbp)
 전기영동시 loading 양 : 3μl
 Template : Human genomic DNA 100ng
 PCR조건 : 98℃ 10sec } 30cycles
 68℃ 8min

② GC rich template의 증폭 효율이 좋다.

: GC 함량이 높은 DNA를 주형으로 각사의 High-Fidelity PCR 효소와 rTaq과 증폭효율을 비교하였다.

3. Library로 부터 cloning에 최적

cDNA 혹은 genome DNA Library로 부터 random하게 colony를 선택하여 복수 clone을 동시에 PCR하는 경우, 공통 primer로 동일한 PCR 온도 조건으로 복수 클론을 한 번에 증폭하는 경우가 있다.

PrimeSTAR HS는 최적 조건이 다른 High-Fidelity형 효소보다 비교적 넓기 때문에, 동일한 반응 조건에서도 insert size가 다른 clone의 증폭할 수 있다.

Human genome DNA를 template로 다양한 길이의 target(0.5~8.5 kbp)을 동일 반응 조건으로 증폭하였다. 동일한 반응 조건으로 다양한 길이의 target을 효율적으로 증폭 할 수 있어 library로 부터 cDNA cloning 등에 응용할 수 있다.

4. 짧은 Annealing시간

PrimeSTAR HS DNA polymerase는 매우 높은 priming 효율을 가지고 있어, 단시간에 annealing(5초 또는 15초)할 수 있으므로, 특이성이 높은 증폭할 수 있다.

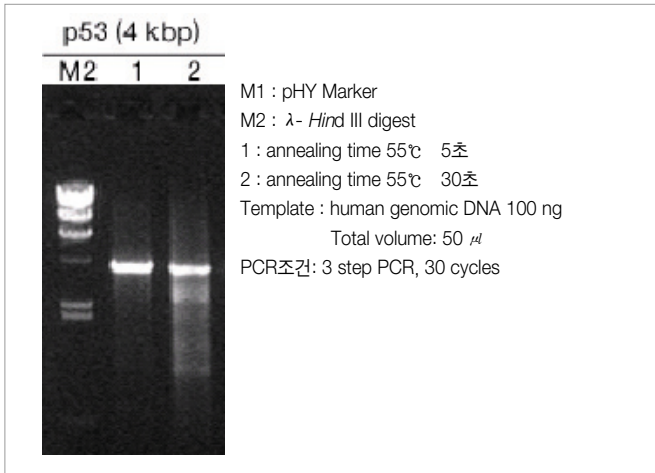


그림 5 PrimeSTAR™ HS DNA Polymerase의 annealing 시간과 증폭효율

일반적인 PCR 반응액 조성(Total 50 μl)

	사용량	최종농도
5 × PrimeSTAR Buffer (Mg ²⁺ plus)	10 μl	1 ×
dNTP Mixture (2.5 mM each)	4 μl	200 μM each
Primer 1	10~15 pmol	0.2~0.3 μM
Primer 2	10~15 pmol	0.2~0.3 μM
Template	< 200 ng	
PrimeSTAR HS DNA Polymerase (2.5 U/μl)	0.5 μl	1.25 U / 50 μl
멸균증류수	up to 50 μl	

※PCR 반응액의 조제는 실온에서도 가능하다. 단, Enzyme 등의 각 시약은 얼음에서 사용하기 바란다.

PCR 조건

(A) 3 step PCR 경우

98°C	10 sec,	} 30 cycles
55°C	5 sec. 또는 15 sec,	
72°C	1 min, /kb	

(B) 2 step PCR 경우

98°C	10 sec,	} 30 cycles
68°C	1 min, /kb	

본 효소의 경우, 일반적으로 3 step PCR 반응을 추천 한다.

* denature 조건 : 98°C 5~10 sec. 를 추천. 94°C로 하는 경우는 10~15 sec. 으로 설정한다.

* annealing 온도: 우선 55°C로 실험한다.

* annealing 시간:

Tm값(아래와 같은 식에서 계산)가 55°C 이상의 경우 → 5 sec.로 설정

Tm값(아래와 같은 식에서 계산)가 55°C 미만의 경우 → 15 sec.로 설정

※Tm 값의 계산방법

$$Tm(°C) = 2(NA+NT) + 4(NC+NG) - 5$$

Primer의 길이가 25mer 이하의 경우에 적용한다. 25mer를 넘는 경우는, annealing 시간을 5 sec.로 설정한다.

3 step으로 적용시 smear한 band가 나타날 경우, 또는 Tm값이 70°C 이상의 primer를 사용하는 경우에는 2 step로의 반응을 권장한다.

<주의!!> 본 효소는 priming 효율이 매우 높은 효소로, annealing 시간은 5 sec. 혹은 15 sec.로 설정하여 반응하는게 좋다. Annealing 시간이 길어지면, smear한 band가 나타나는 경우가 있다.

PCR산물에 관하여

PrimeSTAR HS DNA polymerase를 이용하여 증폭한 PCR 산물의 대부분은 blunt end이다. PCR 산물을 그대로(필요에 따라서 인산화) blunt end vector에 클로닝 할 수 있으며, T-vector에는 cloning 할 수 없다.

※ Blunt end vector에 cloning할 경우는 TaKaRa Mighty Cloning Kit (Blunt end) (TaKaRa Code 6026)를 이용하면 좋다.

샘플신청

www.takara.co.kr

고품격 polymerase을 만나보세요!

High Fidelity High Amplification.

PrimeSTAR HS DNA Polymerase 출시!

샘플사용 신청

배너 클릭