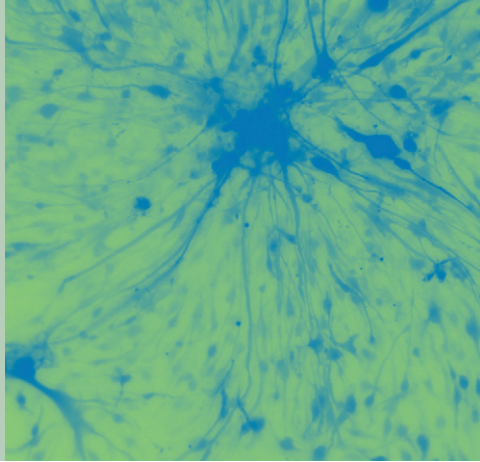


고속 PCR 반응의 최적화 효소 SpeedSTAR™ HS DNA polymerase

TaKaRa Code RR070A 250 U
TaKaRa Code RR070B 1,000 U(A×4)



- 10초/kbp 증폭할 수 있으므로 반응시간을 상당히 단축시킬 수 있다.
- Human genomic DNA를 template로 17.5 kbp까지 증폭할 수 있다.
- Taq antibody가 포함되어 있는 hot start용 PCR 효소로 비특이적 증폭을 억제할 수 있다.

고속 PCR용으로 개발된 SpeedSTAR™ HS DNA polymerase와 최적의 buffer 조합으로 extension 시간을 10~20초/kbp로 단축할 수 있게 되었다. 조건 검토가 쉽고, 반응액 조제부터 증폭산물 확인까지 단시간에 이루어지므로 실험시간을 절약할 수 있다.

내용(제품코드 RR070A)

SpeedSTAR™ HS DNA polymerase(5 U/μl)	50 μl
10× Fast buffer I (30 mM Mg ²⁺ plus)	1 ml
10× Fast buffer II (20 mM Mg ²⁺ plus)	1ml
dNTP mixture(2.5 mM each)	800 μl

* 본 제품에는 2종류의 buffer가 첨부되어 있다. 모두 고속 PCR을 위해 최적화 된 buffer로, 증폭길이 2 kbp까지는 Fast buffer I을, 2~4 kbp 증폭은 Fast buffer I 또는 II를, 4 kbp 이상의 증폭은 Fast buffer II를 권장한다.

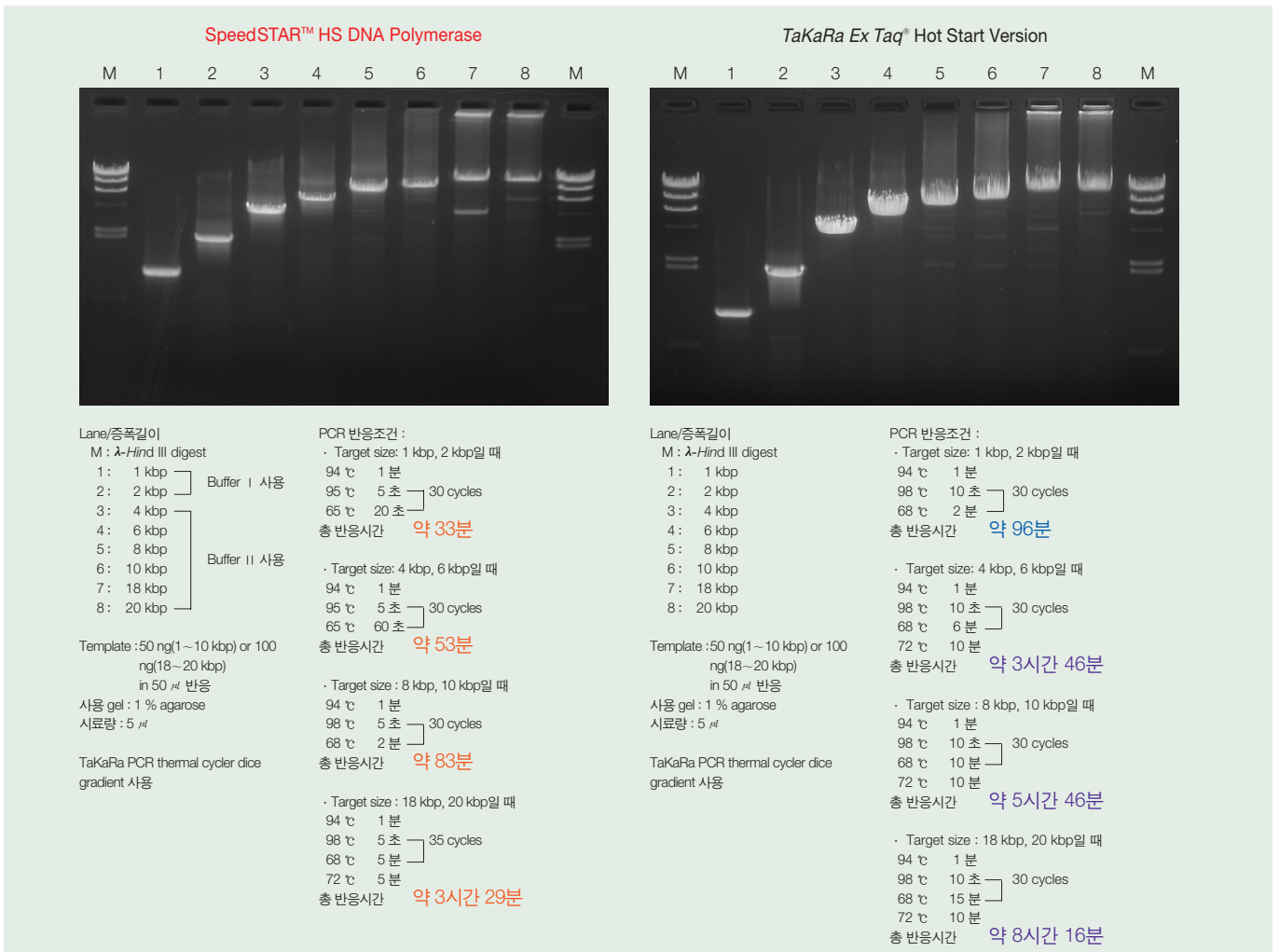


그림1 E. coli genomic DNA의 증폭

SpeedSTAR™ HS DNA polymerase의 PCR 조건

(A) 2 step PCR의 경우

증폭산물 크기에 따라 각 단계의 온도를 다음과 같이 하면 높은 효율로 반응할 수 있다.

· 증폭산물 크기: 4 또는 6 kbp 정도(Fast buffer I, II 공통)

95 °C 5초
65 °C 10(~20)초/kbp } 30 cycles

· 증폭산물 크기: 4 또는 6 kbp 이상(Fast buffer II 사용)

98 °C 5초
68 °C 10(~20)초/kbp } 30 cycles

(B) 3 step PCR의 경우

98 °C 5초
55 °C 10~15초
72 °C 5~10초/kbp } 30 cycles

증폭 예 1 : 반응성 및 반응시간의 비교

SpeedSTAR™ HS DNA polymerase와 TaKaRa Ex Taq® hot start version을 사용한 2 step으로 *E. coli* genomic DNA를 template로 하여 증폭하였다. 각 반응의 PCR 조건과 반응시간을 나타내었다(그림 1).

모든 효소에서 20 kbp까지의 PCR 산물 증폭을 확인하였다. 증폭량은 TaKaRa Ex Taq® hot start version이 뛰어나지만, SpeedSTAR™ HS DNA polymerase에서는 TaKaRa Ex Taq® hot start version의 1/4~1/3 정도까지 반응시간을 단축할 수 있다.

증폭 예 2 : 검출한계 비교

Human genomic DNA를 주형으로 SpeedSTAR™ HS DNA polymerase와 TaKaRa Ex Taq® hot start version을 사용하여 각각의 적합한 조건에서 검출감도를 비교하였다(그림 2, 3).

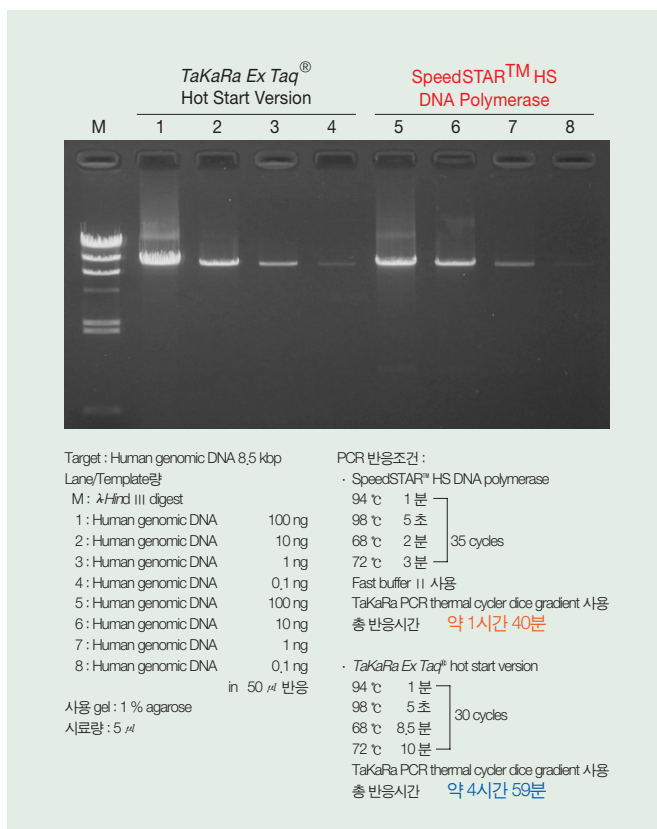


그림 3 Human genomic DNA 8,5 kbp의 증폭

【응용예: Insert 확인】

Plasmid에 삽입된 다양한 크기의 insert(~4.4 kbp)는 SpeedSTAR™ HS DNA polymerase로 PCR(Fast buffer I 과 II 사용)하여 확인하였다. Fast buffer I, II 중 어느 것을 사용해도 동일한 조건에서 각 target size에 해당하는 insert가 증폭되는 것을 확인할 수 있었다.

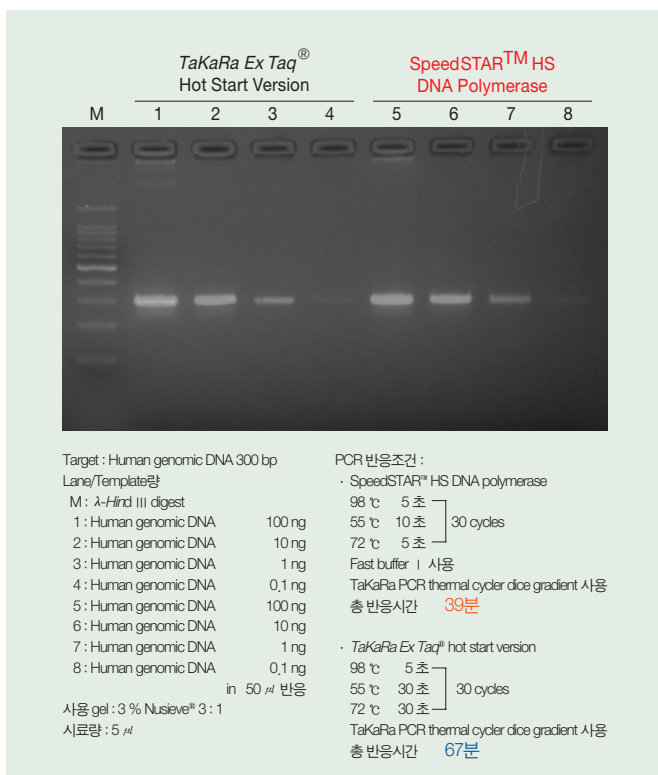


그림 2 Human genomic DNA 300 bp의 증폭

