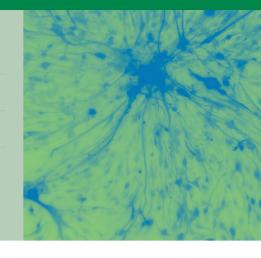
# 고속 PCR 반응의 최적화 효소 SpeedSTAR<sup>™</sup> HS DNA polymerase

TaKaRa Code RR070A 1.000 U(A×4) TaKaRa Code RR070B



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

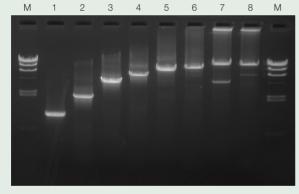
고속 PCR용으로 개발된 SpeedSTAR™ HS DNA polymerase와 최적의 buffer 조합으로 extension 시간을 10~20초/kbp로 단축할 수 있게 되었다. 조건 검토가 쉽고. 반응액 조제부터 증폭산물 확인까지 단시간에 이루어지므 로 실험시간을 절약할 수 있다.

# 내용(제품코드 RR070A)

SpeedSTAR™ HS DNA polymerase(5 U/µ1)	50 μθ
$10\times$ Fast buffer I (30 mM Mg $^{2+}$ plus)	1 ml
$10\times$ Fast buffer II(20 mM Mg <sup>2+</sup> 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 | 을, 2~4 kbp 증폭은 Fast buffer | 또 는 II를, 4 kbp 이상의 증폭은 Fast buffer II를 권장한다.

## SpeedSTAR™ HS DNA Polymerase



# M: λ-Hind III digest 1: 1 kbp - Buffer I 사용 4: 6 kbp 5: 8 kbp 6: 10 kbp 7: 18 kbp 8: 20 kbp -

Template: 50 ng(1~10 kbp) or 100 ng(18~20 kbp) in 50 # 반응 사용 gel: 1 % agarose 시료량:5 원

TaKaRa PCR thermal cycler dice



94 ° 1 분 95 ° 5 초 30 cycles 65 ° 20 초 총 반응시간 약 33분

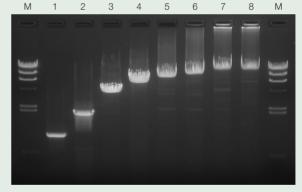
· Target size: 4 kbp, 6 kbp일 때 94°c 1분 95 °C 5 초 30 cycles 65 °C 60 초

총 반응시간 약 53분 · Target size : 8 kbp, 10 kbp일 때 94 ° 1 분 98 ° 5 초 30 cycles 68 ° 2 분

· Target size : 18 kbp, 20 kbp일 때 94 °c 1분 98 °c 5초 -68℃ 5분\_\_ 72 to 5분 총반응시간 약 3시간 29분

총 반응시간 약 83분

### TaKaRa Ex Tag® Hot Start Version



# M : λ-Hind III digest

1: 1 kbp 2: 2 kbp 4: 6 kbp 5: 8 kbp 6: 10 kbp 7: 18 kbp 8: 20 kbp

Template :50 ng(1~10 kbp) or 100 ng(18~20 kbp) in 50 ⊭ 반응 사용 gel : 1 % agarose 시료량 : 5 🖊

TaKaRa PCR thermal cycler dice

· Target size: 1 kbp, 2 kbp일 때 94 ℃ 1분 --- c 10초 \_\_\_ 30 cycles 68 °C 2분 \_\_\_ 출 반으시간 총 반응시간

· Target size: 4 kbp. 6 kbp일 때

98 한 10 초 30 cycles 68 한 6분 372 한 10 분 총 반응시간 약 3시간 46분

· Target size : 8 kbp, 10 kbp일 때 94°C 1 E 98°C 10 E 30 cycles 68°C 10 E

72℃ 10분 약 5시간 46분 총 반응시간

· Target size : 18 kbp, 20 kbp일 때 94° 1 ± 98° 10 ± -68° 15 ± -72° 10 ± 약 8시간 16분

그림1 E, coli genomic DNA의 증폭

# SpeedSTAR™ HS DNA polymerase의 PCR 조건

# (A) 2 step PCR의 경우

증폭산물 크기에 따라 각 단계의 온도를 다음과 같이하면 높은 효율로 반응 할 수 있다.

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



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

```
98 ℃ 5초 -
                        30 cycles
68 °C 10(~20)초/kbp
```

# (B) 3 step PCR의 경우



# 증폭 예 1: 반응성 및 반응시간의 비교

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

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

# 증폭 예 2 : 검출한계 비교

Human genomic DNA를 주형으로 SpeedSTAR™ HS DNA polymerase 와 TaKaRa Ex Tag® hot start version을 사용하여 각각의 적합한 조건에 서 검출감도를 비교하였다(그림 2 3)

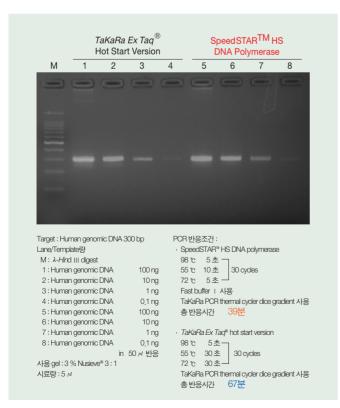


그림 2 Human genomic DNA 300 bp의 증폭

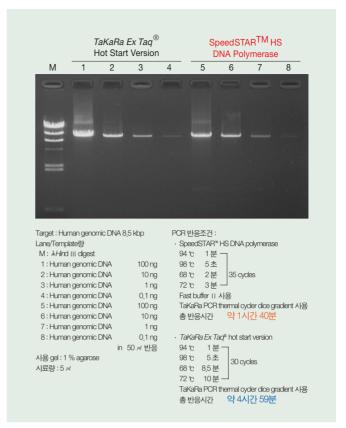


그림 3 Human genomic DNA 8.5 kbp의 증폭

# [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, II중 어느 것을 사용해도 동일한 조건에서 각 target size에 해당하는 insert가 증폭되는 것을 확인할 수 있었다.

