SpeedSTAR™ HS DNA Polymerase

Code No. RR070Q
Size: 50 units

Shipping at − 20℃
Store at − 20℃

Lot No.
Concentration: 5 units/μl
Volume: 10 μl
Expiration Date:

Description :
This product is a hot start PCR enzyme, optimized for high speed PCR. Since it is possible to set the extension time as 10 sec/kb, total reaction time can be shortened. As this enzyme untilizes hot start PCR technique with monoclonal antibody, non specific amplification due to mis-priming and/or formation of primer dimer before thermal cycling can be prevented. This enzyme can be used in a general PCR conditions, since monoclonal antibody is denatured in the initial DNA-denaturation step. Two types of Fast Buffer are supplied. It is recommended to use Fast Buffer I for amplification of the target up to 2 kb, I or II for 2 - 4 kb, and Fast Buffer II for longer than 4 kb.

Components:

SpeedSTAR HS DNA Polymerase (5 U/μl)	10 μl
10X Fast Buffer I (30 mM Mg^{2+} plus)	1 ml
10X Fast Buffer II (20 mM Mg^{2+} plus)	1 ml
dNTP Mixture (2.5 mM each)	180 μl

Supplied dNTP Mixture (2.5 mM each)
dNTP Mixture is ready for use in PCR without dilution.
Form : Dissolved in water (sodium salts), pH7-9
Purity : ≧ 98% for each dNTP

Storage Buffer :

20 mM	Tris-HCl (pH8.0)
100 m	MKCl
0.1 mM	EDTA
1 mM	DTT
0.5%	Tween20
0.5%	Nonidet P-40
50%	Glycerol

Unit definition :
One unit is the amount of enzyme that will incorporate10 nmol of dNTP into acid-insoluble products in 30 minutes at 74℃ with activated salmon sperm DNA as the template-primer.

Reaction mixture for unit definition :

25 mM	TAPS (pH 9.3 at 25℃)
50 mM	KCl
2 mM	$MgCl_2$
0.1 mM	DTT
200 μM	each dATP・dGTP・dCTP
100 μM	[^{3}H]-dTTP
0.25 mg/ml	activated salmon sperm DNA

Purity : Nicking, endonuclease and exonuclease activity were not detected after the incubation of 0.6 μg of supercoiled pBR322, 0.6 μg of λ DNA or 0.6 μg of λ-*Hin*d III digest with 10 units of this enzyme for 1 hour at 74℃.

Application :
For DNA amplification by PCR, especially for high speed PCR.

PCR Products :
As most PCR products amplified with SpeedSTAR HS DNA Polymerase have one A added at 3'-terminus, the obtained PCR product can be directly used for cloning into T-vector. Also it is possible to clone the product in blunt-end vectors after blunting and phosphorylation of the end.

PCR test : Good performance of DNA amplification by high speed PCR was confirmed by using λ DNA as a template (amplified fragment: 20 kb).

General reaction mixture for PCR (total 50 μl):

10X Fast Buffer I or II	5 μl
dNTP Mixture (2.5 mM each)	4 μl
Template	< 500 ng
Primer 1	0.2 - 1 μM (final conc.)
Primer 2	0.2 - 1 μM (final conc.)
SpeedSTAR HS (5 units/μl)	0.25 μl
Sterilized distilled water	up to 50 μl

PCR conditions :
(A) 2 step PCR
Amplification up to 4 or 6 kb (with Fast Buffer I or II)

95℃	5 sec.	30 cycles
65℃	10 (-20) sec./kb	

Amplification over 4 or 6 kb (with Fast Buffer II)

98℃	5 sec.	30 cycles
68℃	10 (-20) sec./kb	

As shown above, efficient amplification can be achieved by setting the thermal cycling conditions depending on an amplified size.

(B) 3 step PCR (with Fast Buffer I or II)

98℃	5 sec.	30 cycles
55℃	10 - 15 sec.	
72℃	5 - 10 sec./kb	

NOTICE TO PURCHASER: LIMITED LICENSE

[P1] PCR Notice
Use of this product is covered by one or more of the following US patents and corresponding patent claims outside the US: 5,789,224, 5,618,711, 6,127,155 and claims outside the US corresponding to expired US Patent No. 5,079,352. The purchase of this product includes a limited, non-transferable immunity from suit under the foregoing patent claims for using only this amount of product for the purchaser's own internal research. No right under any other patent claim, no right to perform any patented method, and no right to perform commercial services of any kind, including without limitation reporting the results of purchaser's activities for a fee or other commercial consideration, is conveyed expressly, by implication, or by estoppel. This product is for research use only. Diagnostic uses under Roche patents require a separate license from Roche. Further information on purchasing licenses may be obtained by contacting the Director of Licensing, Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, USA.

[L15] Hot Start PCR
Licensed under U.S. Patent No. 5.338,671 and 5,587,287, and corresponding patents in other countries.

[M57] LA Technology
This product is covered by the claims 6-16 of U.S. Patent No. 5,436,149 and its foreign counterpart patent claims.

Note
This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.
Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from TAKARA BIO INC.
If you require licenses for other use, please contact us by phone at +81 77 543 7247 or from our website at www.takara-bio.com.
Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements.

SpeedSTAR® HS DNA Polymerase

Code No. RR070Q
Size: 50 units

Shipping at − 20℃
Store at − 20℃

Lot No. （英文面をご覧ください。）
濃度： （英文面をご覧ください。）
容量： （英文面をご覧ください。）
品質保証期限： （英文面をご覧ください。）

●製品説明
SpeedSTAR HS DNA Polymerase は、高速 PCR 用に開発された DNA ポリメラーゼである。最適化された Fast Buffer I または II を用いることで、伸長ステップの時間を 10 秒 /kb に設定することができ、短時間で PCR の結果を得ることができる。また、抗体を用いたホットスタート PCR 用の酵素であり、PCR 反応前のミスアニーリングやプライマーダイマーに起因する非特異的増幅を抑えることができる。この抗体は、PCR の最初の変性ステップで変性するため、特別な活性化ステップは必要ない。増幅鎖長が 2 kb までは Fast Buffer I を、2 ～ 4 kb の増幅には I または II を、4 kb 以上の増幅には II の使用を推奨する。

●内容

SpeedSTAR HS DNA Polymerase（5 U/μl）	10 μl
10 × Fast Buffer I（30 mM Mg^{2+} plus）	1 ml
10 × Fast Buffer II（20 mM Mg^{2+} plus）	1 ml
dNTP Mixture（2.5 mM each）	180 μl

dNTP Mixture（各 2.5 mM）
dATP, dCTP, dGTP, dTTP の等モル混合物で、希釈せずにそのまま PCR 反応に用いることができる。
・形状　水溶液（ナトリウム塩）, pH7 ～ 9
・純度　各 98%以上

●形状

20 mM	Tris-HCl 緩衝液（pH8.0）
100 mM	KCl
0.1 mM	EDTA
1 mM	DTT
0.5%	Tween 20
0.5%	Nonidet P-40
50%	Glycerol

●活性の定義
活性化サケ精子 DNA を鋳型／プライマーとして用い、下記の活性測定用反応液中にて 74℃において、30 分間に 10 nmol の全ヌクレオチドを酸不溶性沈殿物に取り込む活性を 1 U とする。

●活性測定用反応液組成

25 mM	TAPS 緩衝液(pH9.3、25℃)
50 mM	KCl
2 mM	$MgCl_2$
0.1 mM	DTT
各 200 μM	dATP･dGTP･dCTP
100 μM	[^{3}H]-dTTP
0.25 mg/ml	活性化サケ精子 DNA

●純度
1. 10 U の本酵素と 0.6 μg の λ-*Hin*d III 分解物を 74℃、1 時間反応させても DNA の電気泳動パターンに変化は起こらない。
2. 10 U の本酵素と 0.6 μg の supercoiled pBR322 DNA を 74℃、1 時間反応させても DNA の電気泳動パターンに変化は起こらない。
3. 10 U の本酵素と 0.6 μg の λ DNA を 74℃、1 時間反応させても DNA の電気泳動パターンに変化は起こらない。

●用途
PCR 法による DNA 増幅、特に高速 PCR に有効。

● PCR 産物について
SpeedSTAR HS DNA Polymerase を用いて増幅した PCR 産物のほとんどは、3' 末端に A が一塩基付加されている。したがって、その PCR 産物をそのまま T-vector にクローニングすることが可能である。また、平滑末端化およびリン酸化を行って、平滑末端のベクターにクローニングすることも可能である。

●品質検定
λ DNA を鋳型とした高速 PCR 反応（増幅産物 20 kb）において良好な増幅が見られることを確認している。

●一般的な PCR 反応液組成（total 50 μl）

10 × Fast Buffer I or II	5 μl
dNTP Mixture（2.5 mM each）	4 μl
Template	＜ 500 ng
Primer 1	0.2 ～ 1 μM（final conc.）
Primer 2	0.2 ～ 1 μM（final conc.）
SpeedSTAR HS（5 units/μl）	0.25 μl
滅菌蒸留水	up to 50 μl

● PCR 条件
(A) 2 step PCR の場合
増幅鎖長が 4 or 6 kb 程度まで（Fast Buffer I, II とも）

95℃	5 sec.	30 cycles
65℃	10（～ 20）sec./kb	

増幅鎖長が 4 or 6 kb 以上（Fast Buffer II を使用）

98℃	5 sec.	30 cycles
68℃	10（～ 20）sec./kb	

増幅サイズにより、各ステップの温度・時間を上記のように設定することでより効率のよい反応を行うことができる。

(B) 3 step PCR の場合（Fast Buffer I, II とも）

98℃	5 sec.	30 cycles
55℃	10 ～ 15 sec.	
72℃	5 ～ 10 sec./kb	

● 注意
本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
本データシートに記載されている商品名などは、特に記載がなくても各社の商標または登録商標です。ライセンスなどに関する最新の情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。

v201203Da

製品についての
技術的なお問い合わせ先 **TaKaRa テクニカルサポートライン** Tel 077-543-6116 Fax 077-543-1977