

Quick Guide

Beyond the PCR technology, BIOFACT promises the progress for your research.



BioFACT™ F-Star Taq DNA Polymerase

[Cat. No. FS106-500, FS106-25h, FS106-50h]

| Contents | FS106-500 | FS106-25h | FS106-50h |
|--|---------------|----------------|----------------|
| BioFACT™ F-Star Taq DNA Polymerase (5 U/μl) | 500 U | 500 U x 5 ea | 500 U x 10ea |
| 10X F-Star Taq Reaction Buffer (15 mM MgCl ₂ mixed) | 1.0 mL x 2 ea | 1.0 mL x 10 ea | 1.0 mL x 20 ea |
| each 10 mM dNTP Mix (dATP, dTTP, dGTP, dCTP) | 0.4 mL | 0.4 mL x 5 ea | 0.4 mL x 10 ea |
| 5X Band Helper™ | 1.0 mL | 1.0 mL x 5 ea | 1.0 mL x 10ea |

제품 특징 (Feature)

- Source : *Thermus aquaticus*
- 5' → 3' exonuclease activity : Yes
- 3' → 5' exonuclease activity (fidelity) : No
- Amplification size : < 3 kb PCR
- Hot start activity : Yes (Chemically-modified Hot start)
- A-tailing : Yes

PCR Mixture & Cycle

| PCR Mixture | Reaction Vol. 20 μl | Reaction Vol. 50 μl |
|--------------------------------|---------------------|---------------------|
| BioFACT™ F-Star Taq (5 U/μl) | 0.1 μl | 0.25 μl |
| Primer F (10 pmole/μl) | 1 μl | 2 μl |
| Primer R (10 pmole/μl) | 1 μl | 2 μl |
| Template DNA | - μl | - μl |
| 10X F-Star Taq Reaction Buffer | 2.0 μl | 5 μl |
| each 10 mM dNTP mix | 0.4 μl | 1 μl |
| 5X Band Helper™ | 0~8 μl | 0~20 μl |
| Add D.W to | 20 μl | 50 μl |

Cycle*

| [2-Step cycling protocol] | | | [3-Step cycling protocol] | | |
|---------------------------|----------|-----------|---------------------------|-----------|-----------|
| 95 °C | 2 min | X 1 | 95 °C | 2 min | X 1 |
| 95 °C | 20 sec | } X 25~40 | 95 °C | 20 sec | } X 25~40 |
| Anneal & Extension | 1 min/kb | | AT | 20-40 sec | |
| 72 °C | 5 min | X 1 | 72 °C | 1 min/kb | } X 1 |
| 8 °C | ∞ | | 72 °C | 5 min | |
| | | | 8 °C | ∞ | |

(Template <200 ng)

5X Band Helper™ : PCR 증폭용 Additives로 High G+C contents 또는 secondary structure 구조를 지닌 template의 증폭에 매우 효과적입니다 . (단, Fidelity가 있는 PCR enzyme 사용 시에는 mutation의 위험이 있을 수 있으므로 최소량의 사용을 권장합니다 .)

5X Band Helper™ 사용 예

| Reaction mixture (conc. of 5X Band Helper™) | Mix I (0X) | Mix II (0.5X) | Mix III (1X) |
|---|------------|---------------|--------------|
| BioFACT™ F-Star Taq (5 U/μl) | 0.25 μl | 0.25 μl | 0.25 μl |
| Primer F (10 pmole/μl) | 2 μl | 2 μl | 2 μl |
| Primer R (10 pmole/μl) | 2 μl | 2 μl | 2 μl |
| Template DNA | - μl | - μl | - μl |
| 10X F-Star Taq Reaction Buffer | 5 μl | 5 μl | 5 μl |
| each 10 mM dNTP mix | 1 μl | 1 μl | 1 μl |
| 5X Band Helper™ | 0 μl | 5 μl | 10 μl |
| Add D.W to | 50 μl | 50 μl | 50 μl |

Tip.

PCR 수행 시 사용하는 Template의 종류 및 농도, 증폭하고자 하는 target size, primer의 Tm에 따라 template의 사용량, AT, Extension time, Taq의 양, Cycle 수, 5X Band Helper™ 양을 조절해 사용합니다 .

3 kb 이상 증폭 시 BioFACT™ Lamp Taq DNA Polymerase의 사용을 권장합니다 .

▶ Tm값 설정

$$Tm = 4x(G+C) + 2x(A+T)$$

$$AT = Tm - (4 \sim 6 °C)$$

Expiration Date : -20±5°C 보관 시 2년 3개월



Please contact us, if you have any question and need help. T)1670-5695 www.bio-ft.com info@bio-ft.com

2021. 04. 14 (설명서 개정일)

주의사항.

본 제품은 실험 전문 인력이 사용하도록 한다.

제품보증 및 책임사항

- 제품의 유효기간은 구입일로부터 2년3개월이다.
- 설명서에 나온 지침에 따라 제품을 사용하였을 경우에만 모든 제품의 결과를 보증한다.
- 실험자의 잘못된 사용이나 부주의로 인해 문제가 발생하였을 경우에는 교환이 되지 않는다.

안전경고 및 응급조치 요령

- 눈, 호흡기, 피부 접촉을 피한다.
- 눈에 들어갔을 때 : 흐르는 물로 눈을 씻을 것.
 자극이 지속되면 의사의 진료를 받을 것.
- 피부에 접촉시 : 접촉된 부위를 비누와 물로 충분히 씻을 것.
 자극이 지속되면 의사의 진료를 받을 것.
- 동상의 위험이 있으니 반드시 감광 착용 후 사용할 것.

사용자 유의사항

- 유효기한이 지난 제품의 사용을 금지한다.
- 냉동 제품을 자주 열고 녹이는 과정을 반복할 경우, 활성이 저하될 수 있으므로 주의한다.
 필요한 경우, 일정량을 분주하여 보관, 사용하도록 한다.
- 조작성 정해진 순서에 따라 정확히 하여야 하며, 키트는 개봉 후 즉시 사용한다.
- 분리된 검체 DNA/RNA 상태에 따라 상이한 결과를 보일 수 있다.
- 오염된 검체는 부정확한 결과를 나타낼 수 있으므로 주의한다.

알림.

- Genomic DNA / Plasmid DNA / Total RNA는 사용하는 Primer의 종류에 따라 다양한 농도로 사용할 수 있다 .
- NTC (Non-Template Control)을 이용하여 실험 환경내의 오염을 확인하도록 한다 .
- * 실험의 마지막 단계에서 적정량의 DNA / RNA template를 넣어 준다 . NTC에는 template대신 RNase / DNase free water를 넣어 Negative control로 사용한다 .

참고사항.

Template 종류에 따른 사용량 (PCR Cycles)

- Animal genomic DNA : 50 ng ~ 200 ng (25 ~ 35 cycles)
 10 ng ~ 50 ng (25 ~ 40 cycles)
- Bacterial genomic DNA : 10 ng ~ 50 ng (25 ~ 35 cycles)
 1 ng ~ 5 ng (25 ~ 40 cycles)
- Plasmid and Lamda DNA : 1 ng ~ 5 ng (25 ~ 40 cycles)



Troubleshooting Guide

(주) 바이오팩트 사용 시 먼저 check해 주세요.

dNTP 농도 Check: (주) 바이오팩트 dNTP Mix의 농도는 each 10mM입니다 .
 Reaction Vol. 50 μl 기준 dNTP (each 10mM) 1 μl 를 사용합니다 .

Enzyme 농도 Check: Reaction Vol. 50 μl 기준 1.25 Unit을 사용합니다 .
 Band Helper™ 농도 조절 : DNA 구조적인 문제 시 Final 0X~2X로 조절하여 사용합니다 .

Low yield or No Band

- 11. dNTP 농도 check**
 적정량보다 초과 사용 시 substrate inhibition 작용으로 인해 target DNA를 생성하는 데 문제가 발생할 수 있습니다 .
- 12. Band Helper™** - 0X ~ 2X 농도 조절합니다 .

- 11. Annealing Temperature(AT) check**
 $Tm = (A+T) \times 2 + (G+C) \times 4$, $AT = Tm - (4 \sim 6^\circ C)$ 이 산출법으로 설정 후 예도 PCR이 되지 않으면 AT를 2°C 낮추어 진행합니다 .
- 12. Pre-denaturation 온도 및 시간 (제품 Protocol 참조)**
- 13. Extension time Check**
 일반적으로 0.5~1 min/kb로 설정 . 단, Pfu_{II} 는 1~2 min/kb

- 11. Primer degradation check**
 Primer dilution 후 4°C에서 경기간 보관 시 분해되어 PCR에 영향을 줄 수 있습니다. 새로 dilution하거나 재제작하여 사용합니다.
- 12. Starting template check**
 보관상태가 불량하거나 농도가 낮은 경우, quality가 낮은 경우 문제가 발생할 수 있습니다 . 새로 prep하거나 사용을 늘립니다 .

Smear Band

- 11. Enzyme 농도 check**
 Reaction Vol. 50 μl 기준 1.25 Unit을 사용하며 , 계속 smear될 경우 Enzyme 양을 줄여가며 reaction합니다 .
- 12. dNTP 농도 check**
 Long PCR일 경우 적게 사용 시 smear될 수 있습니다 .
- 13. Template 농도 check**
 Template를 dilution하여 사용합니다 .

- 11. Extension time Check**
 Extension time이 적정시간보다 길 경우 , target size보다 긴 단편들이 형성되어 smear될 수 있습니다 .
- 12. Cycle number check**
 cycle 수를 줄여서 PCR합니다 .

- 11. Annealing Temperature(AT) check**
 $Tm = (A+T) \times 2 + (G+C) \times 4$, $AT = Tm - (4 \sim 6^\circ C)$ 이 산출법으로 설정 후 예도 PCR이 되지 않으면 AT를 2°C 낮추어 진행합니다 .
- 12. Pre-denaturation 온도 및 시간 (제품 Protocol 참조)**

Non-Specific Band

- 11. Annealing Temperature(AT)를 높여 PCR 합니다.**
- 12. Band Helper™를 첨가합니다.**
- 13. Hot Start Enzyme를 사용하여 PCR을 진행합니다.**

