

Hot start 에 대한 새로운 정의
AptaTaq DNA Polymerase Family



CUSTOMBIOTECH

기다릴 필요가 없는 가역적인 enzyme 활성화 AptaTaq DNA Polymerase Family

여러분의 실험을 더 정확하고 빠르게 하고 싶으신가요? AptaTaq Polymerases가 여러분을 도와드릴 수 있습니다. AptaTaq Polymerase family의 제품은 온도에 따라 4차 구조가 변하는 aptamer-oligonucleotide를 기반으로 하는 Hot start Taq polymerase입니다. (Figure 1).

MD 제조사를 위한 디자인

- 건조 용법에 용이 하도록 고농도의 Glycerol-free 제품이 준비되어 있습니다
- 광범위한 테스트를 거친, ISO 13485 품질의 제품으로 여러분의 프로세스에 안정성을 기할 수 있도록 일관된 성능의 lot으로 제공합니다.
- dUPT를 사용하여 Uracil-DNA Glycosylase를 이용한 PCR carryover contamination 방지를 돕습니다.

상온에서의 안정성

- 안정성이 매우 높은 enzyme으로 상온 (+15 to +25°C)에서 최대한달까지 보관이 가능합니다.
- Enzyme을 열리고 녹이는 과정을 여러 번 반복하지 않아도 됩니다.
- 실온에서 PCR 반응을 쉽게 셋업할 수 있습니다.

TAT는 낮추고 특이성은 높임

- 안정적인 aptamer를 이용하여 enzyme의 활성을 가역적으로 조절이 가능해 특이성, 민감도, 그리고 수율을 최대로 끌어 올릴 수 있습니다.
- Chemically modified hot start polymerase와 달리 초기 활성화 단계를 생략할 수 있기 때문에 PCR cycle 당 15 분까지 절약이 가능합니다.

니즈에 따른 다양한 선택폭

- Master mix 형 혹은 enzyme만 따로 구매 가능 합니다.
- SNP 분석과 allele-specific PCR을 위해 Δexo variant를 선택할 수 있습니다.
- 미생물 분석 시에는 DNA 오염을 최소화한 Enzyme을 선택할 수 있습니다.

Aptamer 원리

Antibody-based 방식과 같이 열로 enzyme을 활성화시킵니다. 그러나 Antibody와는 달리 aptamer-oligonucleotide는 합성으로 생산이 되어 contamination의 위험을 줄일 수 있으며, 온도에 덜 민감해서 상온에서 보관이 가능합니다. 낮은 온도에서는 Aptamer-oligonucleotide가 polymerase에 단단히 결합함으로 Enzyme이 비활성화 됩니다. 즉, Aptamer는 분자 스위치로 작용하여 온도에 따라 4차 구조를 변화시킵니다. 55°C 이하로 온도를 떨어뜨리면 polymerase가 비활성화 되고 60°C 이상으로 올리면 완벽한 활성화가 이루어 집니다.

비활성 상태 Taq DNA Polymerase aptamer에 의해 저해

활성 상태 Taq DNA Polymerase + 변성이 된 Aptamer

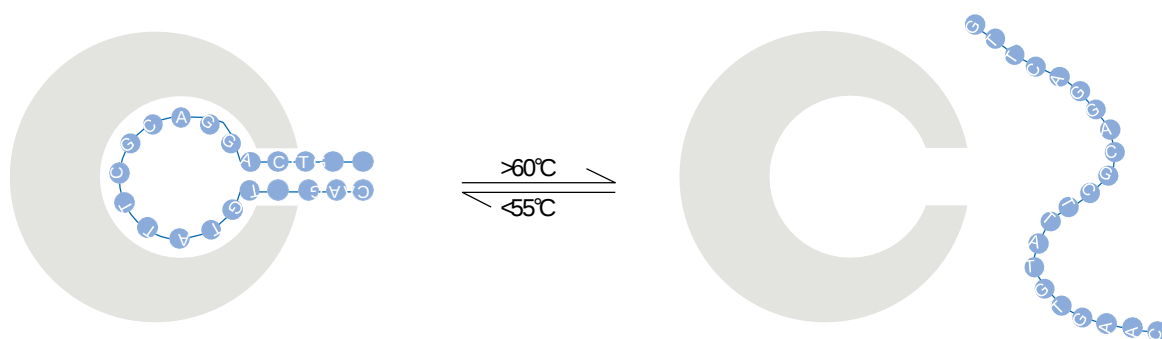


Figure 1: Temperature-dependent hot start system 으로 Aptamer와 enzyme mix는 가역적인 반응을 일으킵니다.

Lyo-ready Aptaq DNA Polymerases 로 Assay format 을 활용도에 맞게 디자인

고농축의 Glycerol-free formulations

AptaTaq DNA Polymerases는 고농축의 glycerol-free solution 형태로도 제공이 되므로 lyophilization 과정과 그 뒤 보관과정에서 안정성을 보장해 드립니다. (Figure 2). 매우 견고한 polymerase로 PCR plate 내에서 바로 건조를 하더라도, 건조 전 후에 성능의 변화가 없으므로 (Figure 3), assay 포맷 디자인 시 다양한 가능성을 고려할 수 있게 합니다.

건조 전 vs 후, 37°C에서 보관한 Enzyme의 활성 비교

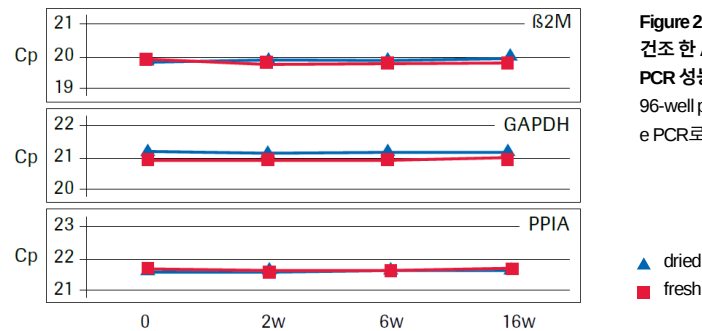


Figure 2: 건조 하지 않고 제조된 Aptamer DNA polymerase Master mix와 건조 한 Aptamer DNA polymerase를 37°C에서 2,6 그리고 16주 보관한 후 PCR 성능 비교 Aptaq DNA Polymerase 를 PCR primers, probe와 함께 96-well plate에서 건조. 다시 솔루션으로 만들고 샘플을 첨가 후, real-time PCR로 Cp values 측정.

솔루션 타입과 건조 타입의 master mix모두에서 재현성을 보임

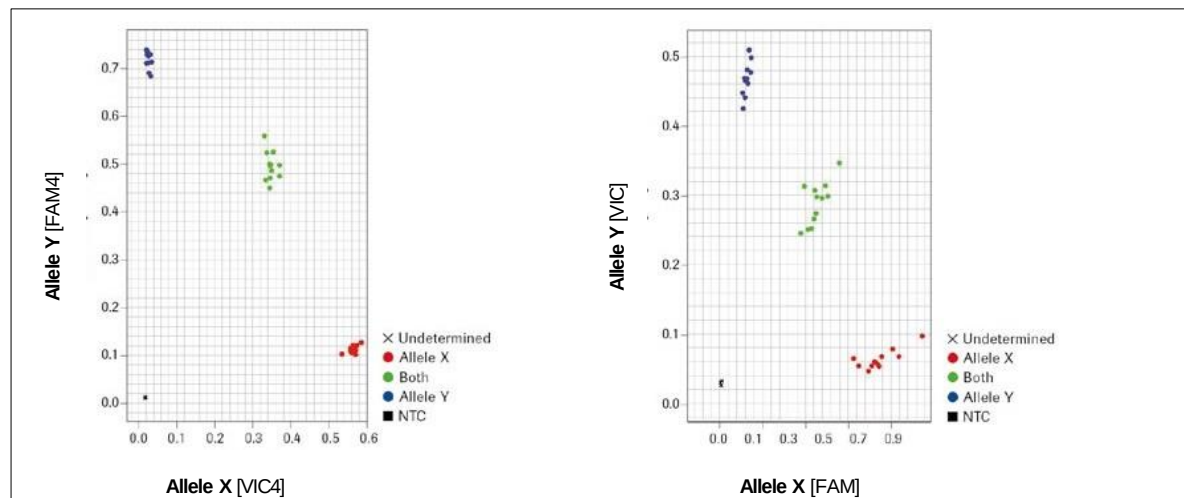


Figure 3: Aptaq Genotyping Master의 PCR 결과. 건조 하지 않은 fresh master mix(왼쪽)와 plate에 master mix를 넣고 건조 후 실험 (오른쪽)한 결과가 동일함을 확인할 수 있음. Aptaq Genotyping Master에 PCR prime와 probe를 넣고 다른 첨가물 없이 96-well plate에서 건조. 물과 샘플을 첨가 후 real time PCR 수행. Genotyping을 위해 End point의 형광 값은 VIC와 FAM 채널로 읽음

제품명

AptaTaq Δ exo DNA Polymerase, 50 U/μl
AptaTaq DNA Polymerase LDx, 50 U/μl
AptaTaq Genotyping Master
AptaTaq Genotyping Master (Rox)

제품 번호

05364086 103
05447895 103
05955807 103
05955823 103



qPCR과 multiplex PCR을 위한 특이성과 안정성 AptaTaq DNA Polymerase

AptaTaq DNA polymerase는 single 혹은 multiplex PCR에 모두 사용이 가능하며 높은 수준의 특이성과 민감도, 수율이 요구되며 빠르게 결과를 도출해야 하는 모든 qPCR에 적합합니다. 특이성이 높으면서 안정한 Enzyme은 매우 낮은 copy의 target도 검출할 수 있으며 (Figure 4), +2에서 +8°C에서 14개월 보관 후에도 처음과 같은 수준의 활성을 보입니다. (Figure 5).

Factor V wild-type target의 증폭

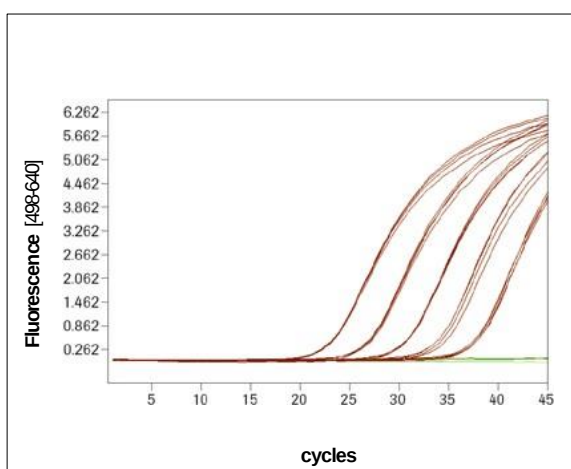


Figure 4: AptaTaq DNA Polymerase의 민감도와 특이성(5 U/μl, Real-Time PCR) 다양한 양의 plasmid DNA (5000 fg 에서 0.5 fg)가 HybProbe probe 를 이용한 Factor V wild-type fragment 의 증폭.

+2에서 +8°C에서 Real-Time 안정성

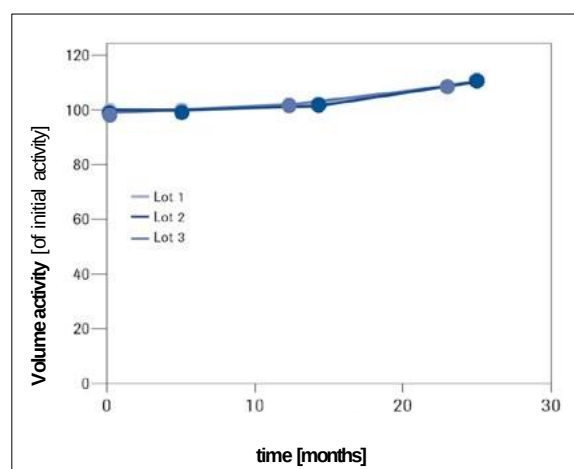


Figure 5: AptaTaq DNA Polymerase의 real time 안정성, glycerol-free, 50 U/μl. +2에서 +8°C에서 서로 다른 기간 동안 보관 후 radioactive test로 volume activity를 측정. Activity는 time 0에서 % activity로 표기

제품명

AptaTaq DNA Polymerase 5 U/μl
AptaTaq DNA Polymerase glycerol-free, 50 U/μl
AptaTaq DNA Master, custom fill
AptaTaq DNA Master, 5 ml

제품 번호

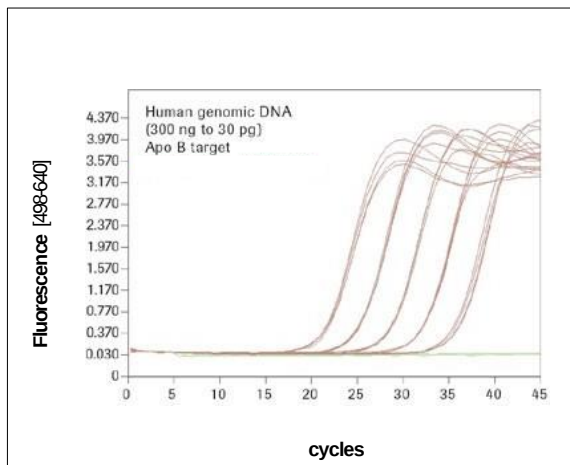
05 457 882 103
05 187 605 103
05 537 533 103
05 537 533 101

SNP 분석과 genotyping에 최적화 AptaTaq Δexo DNA Polymerase

AptaTaqΔexo DNA Polymerase는 N-terminal 이 잘려진 Taq DNA Polymerase에 Aptamer 기술이 융합된 높은 품질의 enzyme으로 비특이적인 증폭을 최소화 합니다.(Figure 6). SNP 분석과 genotyping, allele-specific PCR, multiplexing, 그리고 arbitrarily primed PCR을 위해 AptaTaqΔexo DNA Polymerase를 사용해 보십시오.

- **SNP 분석의 최적화** Allele-specific PCR에 최적화 되어 있는 enzyme을 선택 하여 paired primer와 unpaired primer의 증폭을 확실히 구분
- **빠르고 믿을 수 있는 결과** 5' - 3' exonuclease activity가 제거된 Taq DNA polymerase가 필요한 실험에서도 AptaTaq DNA polymerase 속도와 견고함

Apo B의 증폭



Parvo B19의 증폭

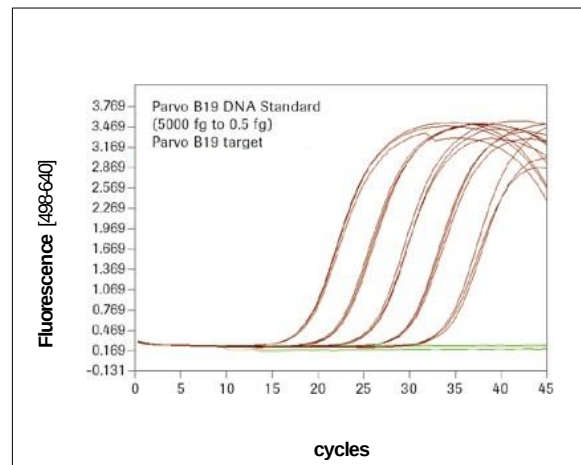


Figure 6: AptaTaq Δexo DNA Polymerase의 민감도, 5 U/μl, Real-Time PCR

PCR 조건: Denaturation: 95°C에서 30 초. Amplification: 95°C에서 5초, 60°C에서 15초, 72°C에서 10 초, 45 cycles. Cooling: 40°C에서 60초

제품명

AptaTaq Δexo DNA Polymerase 5 U/μl

AptaTaq Δexo DNA Polymerase 50 U/μl

제품 번호

05 458 030 103

05 364 086 103

Remark: 이 Enzyme은 5' -3' exonuclease 활성이 없으므로 hydrolysis probe-based assays에는 적합하지 않습니다.

High through-put 과 건조 요법에 최적화 AptaTaq Genotyping Master

AptaTaq Genotyping Master 는 특히 high throughput 용법에 적합하여 자동화 및 샘플의 양이 적은 실험에 용이 합니다. AptaTaq DNA Polymerase는 안정하면서도 빠른 결과를 보장합니다. (Figures 7과 8).

● 사용의 유연성

5x 농축으로 제공되는 master mix는 다양한 reaction volume에 사용이 가능하며 이는 적은 양의 crude 샘플에서도 적용이 가능하게 합니다.

● 30분 내로 결과를 얻음

다른 Hot start enzyme과는 달리 별도의 활성화 단계가 필요 없음

● High throughput에 장점

상온에서 24시간 보관해도 매우 안정, 최적화된 점도로 정확한 파이펫팅을 도우므로 자동화에도 적용이 유리

● pre-plated master mix로 multiwell 사용가능

Primer, probe, 그리고 샘플만 첨가하여 바로 사용 (Figure 3, page 3)

여러 target에 대한 정확하고 명백한 genotyping

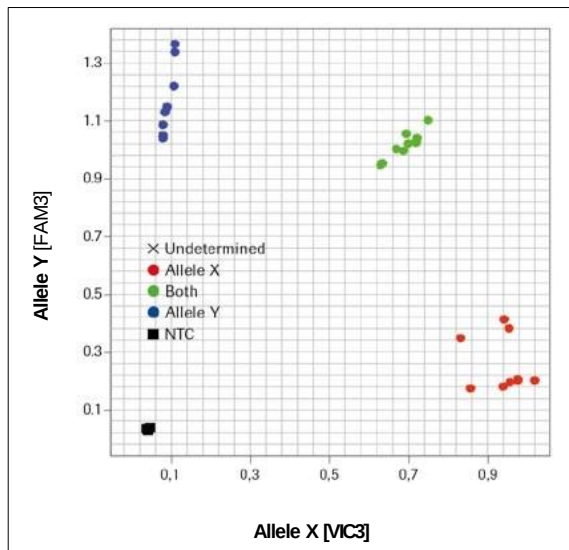


Figure 7: 깨끗한 allele의 분리, 낮은 reaction volume과 hydrolysis probe로 real time PCR을 해서 endpoint genotyping한 결과 Wild 타입과 mutant TGFβ fragment는 2 step protocol로 증폭이 됨. End point의 형광 값은 VIC와 FAM 채널로 읽었음.

reaction volume: 1 µl.

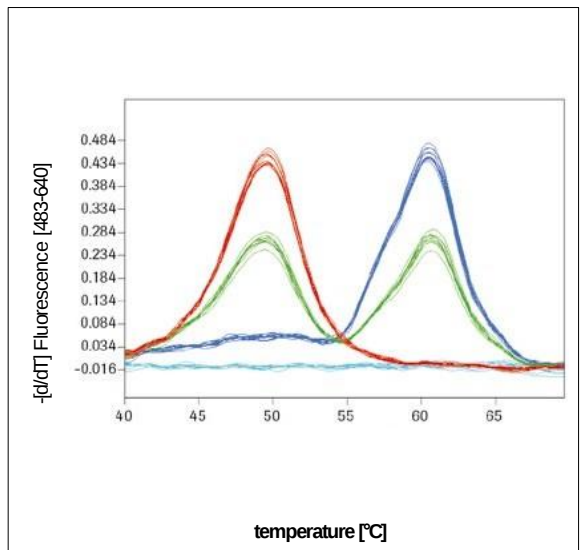


Figure 8: SNP 검출, HybProbe probes를 이용해 Real-Time PCR. 서로 다른 human Factor II의 SNP를 3 step real time PCR protocol을 이용해 증폭 후 melting curve 분석으로 genotyping

제품명

AptaTaq Genotyping Master, 10ml
AptaTaq Genotyping Master (ROX), 10 ml
AptaTaq Genotyping Master (ROX), custom fill

제품 번호

05 955 807 103
05 955 823 103
05 890 144 103

미생물 검출을 위한 최적의 시약

AptaTaq DNA Polymerase LDx

AptaTaq DNA Polymerase LDx는 최고의 성능이 필요되는 까다로운 Assay에 적합하도록 독보적인 민감도를 위해 디자인된 제품입니다. 핵산의 오염은 PCR 결과에 부정적인 영향을 주며 민감도와 특이성을 낮추며 잠재적으로 위양성 결과를 도출할 수 있게 합니다. 최고 수준의 생산 설비와 ISO13485의 엄격한 검증을 마친 QC 시스템으로 Roche Custom Biotech은 **Ultra clean** DNA polymerase를 생산합니다. 초민감도 QC 측정은 박테리아, 곰팡이, 사람 DNA의 오염에 대한 리스크를 최소화할 수 있게 합니다.

잠재적인 오염의 위험을 줄이는 다단계 검증 시스템

- 염색된 원료의 사용으로 DNA 유입을 최소화합니다.
- 사용되는 기기, 버퍼 그리고 솔루션들은 꼼꼼하게 Decontamination이 됩니다.
- 훈련된 직원들이 분리된 Clean room에서 생산합니다.
- DNA 오염은 확실히 탐지하여 크로마토 그래피로 제거가 됩니다.
- 최종 생산물은 LightCycler® assay로 fungal DNA, gram-positive, gram-negative bacterial DNA 그리고 human DNA가 없음을 확인합니다.
- 어떠한 DNA 라도 DNA polymerase 20 unit 당 1 genome 이하임을 보장합니다.(Figure 9)

제품 출하를 위한 QC test

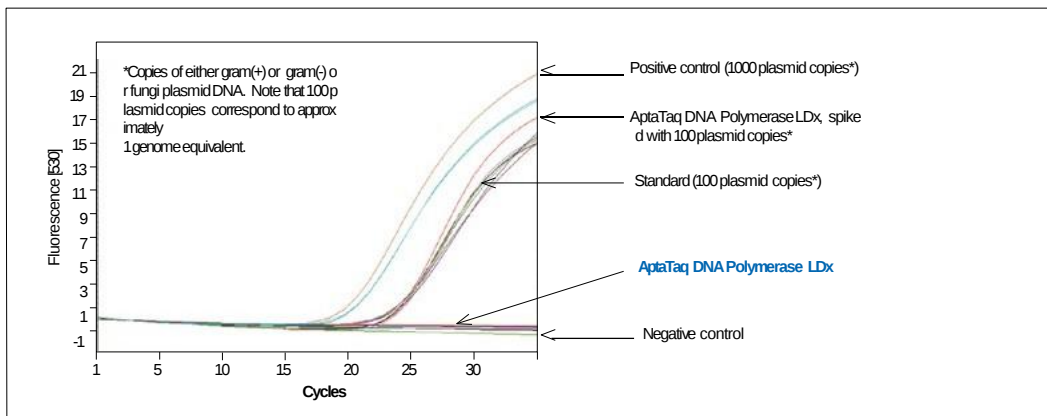


Figure 9: Real time PCR을 위한 AptaTaq DNA polymerase LDx 제품 출하를 위한 QC test, LightCycler® UniTool ResoLight. 30unit의 AptaTaq DNA Polymerase LDx, glycerol-free로 실험, 50 U/μl은 gram(+), gram(-) bacterial DNA 혹은 fungal DNA의 오염이 없음이 확인 됨. 출하를 위한 QC 값은 DNA polymerase 20unit 당 <1genome.

제품명

AptaTaq DNA Polymerase LDx, 5 U/μl

AptaTaq DNA Polymerase LDx, 50 U/μl

제품 번호

05 884 314 103

05 447 895 103

연관 제품 주문 정보

제품명	포장 단위	제품 번호
Additional products		
Uracil-DNA Glycosylase, heat-labile	custom fill	11780 565 103
NucleoMixes PCR Grade		
dATP, dCTP, dGTP, dTTP (25 mmol/l each)	20 ml	04 920 171 103
dATP, dCTP, dGTP, dTTP (10 mmol/l each)	200 µl	04 729 706 103
dATP, dCTP, dGTP, dUTP (25 mmol/l each)	20 ml	04 920 171 103
dATP, dCTP, dGTP, dUTP (10 mmol/l each)	100 ml	03 186 075 103
dNTPs PCR Grade		
dATP (100 mmol/l)	20 ml	04 631 056 103
	100 ml	11 889 516 103
dCTP (100 mmol/l)	20 ml	04 631 072 103
	100 ml	11 889 508 103
dGTP (100 mmol/l)	20 ml	04 631 129 103
	100 ml	11 889 524 103
dTTP (100 mmol/l)	20 ml	04 631 137 103
	100 ml	11 889 559 103
dUTP (100 mmol/l)	20 ml	04 631 145 103
	100 ml	11 889 532 103

Regulatory disclaimer

For further processing only.

Trademarks

APTATAQ, HYBPROBE, LIGHTCYCLER, RESOLIGHT and UNITOOL are trademarks of Roche.

한국로슈진단(주)



서울특별시 강남구 테헤란로 108길 22 (06174)
 TEL : 02-550-3300 Fax : 02-550-1218
 E-mail : korea.diagnostics@roche.com
 Homepage : <http://custombiotech.roche.com>