SapphireAmp® Fast PCR Master Mix

Code No. RR350A Size: 1 ml x 4 (for 160 PCR reactions)

Supplied Reagent: dH₂O

1 ml x 4

Description:

SapphireAmp Fast PCR Master Mix contains a hot start PCR enzyme, optimized buffer, dNTP mixture, gel loading dye (blue), and a density reagent as a 2X premix. SapphireAmp Fast PCR Master Mix is optimized for fast PCR and offers a rapid extension rate (10 sec. per kb). The inclusion of blue dye and a density reagent allows direct loading of PCR products on an agarose gel for electrophoresis. The master mix format simplifies workflows and sample handling; simply add primers, template, and water and then begin PCR.

SapphireAmp Fast PCR Master Mix is ideal for fast colony PCR screening. Fast colony PCR amplification of a 5 kb insert can be completed in approximately 1 hr 15 min. Furthermore, it is possible to amplify fragments up to 6 kb from genomic DNA templates.

Storage:

-20°C for long-term storage. 4°C for short-term storage (up to 3 months). (Note) If used frequently, store at 4°C; the activity of the Master Mix may decrease with repeated freezing and thawing. Gently mix well before use and centrifuge briefly.

Application:

- DNA amplification by PCR
- · Colony PCR

Quality Control Data:

Please see the Certificate of Analysis (CoA) for each lot. You can download the CoA on Takara Bio website.

PCR Products:

Since most PCR products amplified with SapphireAmp Fast PCR Master Mix have an A overhang added at 3'-termini, the obtained PCR product can be used directly for cloning into a T-vector. Additionally, it is possible to clone the product in a blunt-end vector after blunting and phosphorylation of the end

Dye Migration During Electrophoresis:

When 5 μ I of the PCR sample is loaded on a 1% gel made with Agarose L03 [TAKARA] (Cat. #5003/5003B) and subjected to electrophoresis, the blue dye fronts are detected at positions corresponding to 1 kb and 3 - 5 kb. The absorption maxima for the dyes are \sim 260 nm and 620 nm, respectively. The dyes may be removed by isolating and purifying the DNA fragment from the gel or extracting DNA with NucleoSpin Gel and PCR Clean-up (Cat. #740609.50/.250), if necessary.

General Reaction Composition for PCR (50 μ I reaction volume) :

SapphireAmp Fast PCR Master Mix (2X Premix)	25 μΙ
Forward Primer	0.2 μM (final conc.)
Reverse Primer	0.2 μ M (final conc.)
Template — human genomic DNA	50 - 100 ng
_ plasmid DNA	100 pg - 10 ng
dH ₂ O	up to 50 μ l

PCR Conditions (example):

3 step PCR (human or mouse genomic DNA: up to 2 kb product, bacterial genomic DNA or colony PCR insert: up to 6 kb product)

94°C, 1 min → 98°C 5 sec

$$55$$
°C 5 sec
 72 °C 10 sec/kb* 30 cycles
* 5 sec for less than 1 kb

2 step PCR (human or mouse genomic DNA: 2 - 6 kb)

94°C, 1 min
$$\rightarrow$$
 98°C 5 sec 68°C 30 sec/kb 30 cycles

(Note) Denaturation conditions vary depending on the thermal cycler and tubes used for PCR. We recommend denaturing for 5 - 10 sec at 98 °C or 20 - 30 sec at 94 °C

SapphireAmp is a registered trademark of Takara Bio Inc.

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 77 565 6972 or from our website at www.takarabio.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.

All trademarks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

v202110Da

SapphireAmp® Fast PCR Master Mix

Code No. RR350A 容量: 1 ml×4

(160 回 PCR 反応分)

添付試薬:

 dH_2O 1 ml×4

● 製品説明

SapphireAmp Fast PCR Master Mix (2 × Premix) は、伸長時間 10 秒 /kb の高速反応が可能な PCR 用 Dye 入りプレミックス試薬である。

高速 PCR に必要なコンポーネント(最適化したバッファー、PCR 酵素、dNTP Mixture 等)と、アガロースゲル電気泳動操作時に便利な色素マーカー(移動度の違う青色 2 種類)ならびに比重増加剤を含む 2 倍濃度のプレミックスタイプで、Hot Start PCR にも対応している。

プライマーと鋳型 DNA を加えるだけで簡単に高速 PCR を行うことができ、反応後は反応液を直接電気泳動に供することもできるため、飛躍的に作業効率を向上できる。

本製品は大腸菌のコロニー PCR によるインサートチェック (5 kb 前後までの増幅を推奨) にも適しており、短時間で結果が得られる (5 kb の増幅 所要時間;約1時間15分)。また、ヒトゲノム DNA を鋳型とした PCR で6kb の増幅を確認している。

● 保存: - 20°C (4°Cで3ヵ月保存可能)

注) 過度な凍結融解の繰り返しは活性が低下する場合があります。使用頻度が高い場合、一度融解したものは 4℃保存をお勧めします。使用前には、転倒混和後スピンダウンしてください。

●用途

- ・DNA、cDNAの PCR 増幅
- ・コロニー PCR 等

● 品質管理データ

性能試験結果については、各ロットの Certificate of Analysis (CoA) をご覧 ください。CoA はタカラバイオウェブサイトからダウンロードできます。

● PCR 産物について

本製品を用いて増幅した PCR 産物のほとんどは、3' 末端に A が 1 塩基付加されている。したがって、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、末端平滑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。

● 色素マーカーについて

反応液 5 μ l を 1% Agarose L03 「TAKARA」(製品コード 5003/5003B)で泳動した場合、青色マーカーが 1 kb 付近と 3 \sim 5 kb 付近の位置に確認できる。また、色素は 260 nm 付近、620 nm 付近に吸収をもつが、ゲル切り出しや NucleoSpin Gel and PCR Clean-up (製品コード 740609.10/.50/.250)による増幅産物のクリーンアップなどで DNA を回収すると除去することができる。

● 一般的な PCR 反応液組成 (total 50 μl)

● PCR 条件(例)

マウスおよびヒトゲノム DNA (~ 2 kb)、細菌ゲノム DNA (~ 6 kb)、コロニー PCR (~ 6 kb) の場合

3 step PCR

94℃、1 min. → 98℃ 5 sec. 55℃ 5 sec. 72℃ 10 sec./kb* 30 cycles *:1 kb 以下は 5 sec.

マウスおよびヒトゲノム DNA $(2 \text{ kb} \sim 6 \text{ kb})$ の場合 2 step PCR

94°C、1 min. \rightarrow 98°C 5 sec. 68°C 30 sec./kb 30 cycles

注) 変性条件は、サーマルサイクラーの使用機種と反応チューブの種類に 合わせて設定する。設定の目安は、98°C 5 ~ 10 sec.、あるいは 94°C 20 ~ 30 sec.。

● 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。

ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。 本データシートに記載されている会社名および商品名などは、各社の 商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有 者に帰属します。

v202110Da