

# 簡単・便利なDye入りPCRマスターミックスに 高速PCRバージョンが新登場!

## SapphireAmp™ Fast PCR Master Mix

製品コード RR350A 160回(50 μl反応系)  
RR350B(A×5) 800回(50 μl反応系)

- 10秒/kbの高速PCRが可能
- 5 kb前後のコロニーPCRがわずか1時間で完了
- 比重増加剤とLoading dyeも入った完全プレミックスタイプ
- ホットスタートPCR対応で反応液の室温調製が可能

SapphireAmp™ (サファイアアンプ) Fast PCR Master Mixは、高速PCRに必要な酵素反応液組成と電気泳動用アガロースゲルへのアプライに必要なLoading dyeおよび比重増加剤を含む完全プレミック試薬です。伸長時間「10秒/kb」の高速PCRを実現し、一般的なPCR試薬に比べて反応所要時間を1/2程度に短縮できます。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ができるため、作業効率が飛躍的に向上します。また、ホットスタートPCR酵素を使用しているため、室温での反応液調製が可能です。

コロニーPCRによる組換え大腸菌の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、5 kbの増幅が約1時間で完了しました(実験例1を参照)。

### ■ 内容(160回: 50 μl反応系)

SapphireAmp™ Fast PCR Master Mix (2× Premix)	1 ml × 4
dH <sub>2</sub> O	1 ml × 4

### ■ 実験例1: コロニーPCRによるインサート確認

#### 【方法】

マウスcDNAライブラリー(pUC118ベクターに0.5~5 kbのフラグメントを挿入)で形質転換して得られた大腸菌コロニーをランダムにピックアップし、M4プライマーとRVプライマーを用いて本製品によるコロニーPCRを行い、インサートを確認した。

#### 【結果】

調べた16クローンのすべてにおいて、0.5~5 kbのインサートを確認でき(図1)、反応所要時間はわずか1時間程度でした。

なお、ここで示すコロニーPCR実験は製品プロトコルに従って50 μl反応系で行いましたが、20~25 μlのより少ない反応液量で行った場合も良好な増幅がみられました。

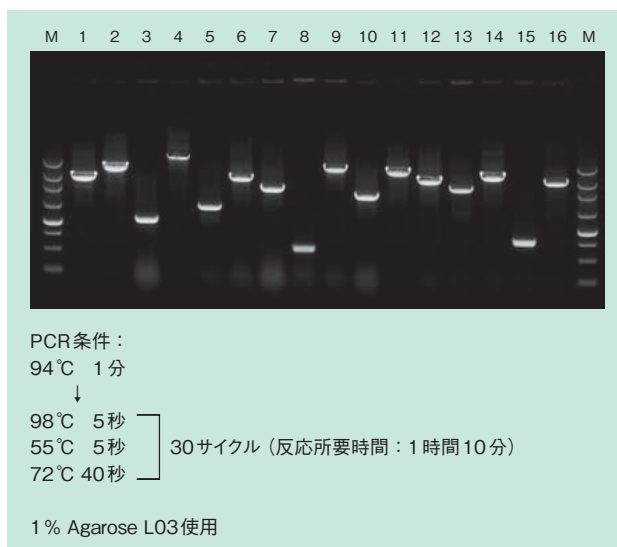


図1 コロニーPCRによるインサート確認

レーン1~16: コロニーPCR(反応液5 μlをアプライ)  
M: 250 bp DNA Ladder (Dye Plus)

装置: TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice® Gradient (Mode1で使用)

SapphireAmp™ Fast PCR Master Mixでは、簡単、確実に迅速にコロニーPCRを行うことができ、大幅な時間短縮に役立ちます。

### ■ 実験例2: ヒトゲノムDNAを鋳型としたさまざまなターゲットの増幅

#### 【方法】

本製品を用いて、ヒトゲノムDNA 100 ngを鋳型としてさまざまな領域のPCR増幅を行った。

また、色素入りプレミックスタイプのA社およびB社PCR製品についても、それぞれの推奨条件でPCR増幅を行い、増幅結果と所要時間の比較を行った。

## 【結果】

SapphireAmp™ Fast PCR Master Mixでの反応所要時間は、他社製品に比べて約1/4～1/2であり(表1)、実験にかかる時間を大幅に短縮できます。また、各増幅鎖長(0.5～6 kb)において、良好なターゲットの増幅が確認できました(図2)。

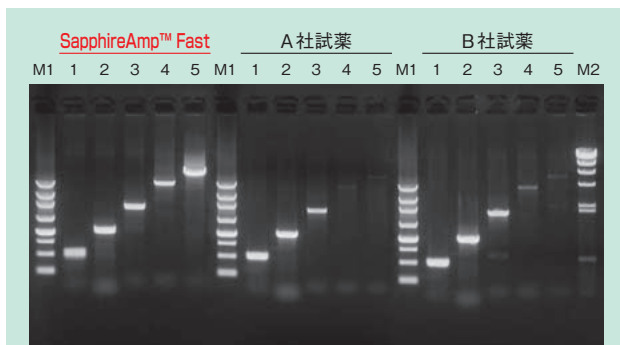
表1 TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice® (Mode1)を使用した場合のおおよその反応所要時間

増幅鎖長	SapphireAmp™ Fast	A社試薬	B社試薬
0.5 kb	50分	1時間35分	1時間30分
1 kb	55分	1時間50分	1時間45分
2 kb	1時間	2時間20分	2時間15分
4 kb	1時間30分	3時間20分	3時間15分
6 kb	2時間	4時間20分	4時間15分

(弊社比較データ)

SapphireAmp™ Fast PCR Master Mixは、コロニーPCRをはじめ、約5 kbまでのターゲットの高速PCR増幅にお勧めのプレミックス試薬です。

ターゲット配列がGCリッチである場合や、さらに長鎖の増幅を行いたい場合は、BIO VIEW 57号でご紹介した高性能タイプのプレミックス試薬EmeraldAmp™ PCR Master Mixをお試しください。



(弊社比較データ)

### [SapphireAmp™ FastのPCR条件]

レーン：1～3 (増幅鎖長0.5～2.0 kb)

94℃ 1分

↓

98℃ 5秒  
55℃ 5秒  
72℃ 10秒/kb

30サイクル

レーン：4, 5 (増幅鎖長4.2 kb, 5.9 kb)

94℃ 1分

↓

98℃ 5秒  
68℃ 30秒/kb\*

30サイクル

\* ヒトゲノムDNAを鋳型として2 kbより長いターゲットを増幅する場合は、伸長時間を30秒/kbに設定してください。

他社製品は各社推奨条件(1分/kb)で反応を行いました。

1% Agarose LO3使用

図2 ヒトゲノムDNAを鋳型としたさまざまなターゲットの増幅

ターゲット遺伝子	増幅鎖長	(GC含量)
レーン1：p53	0.5 kb	(54%)
2：FFAR2	1.0 kb	(59%)
3：DCLRE1A	2.0 kb	(38%)
4：p53	4.2 kb	(48%)
5：IGF2R	5.9 kb	(50%)
M1：250 bp DNA Ladder		
M2：λ-Hind III digest		

鋳型：ヒトゲノムDNA (100 ng/50 μl 反応系)  
装置：TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice® Gradient (Mode1で使用)  
アプライ量：反応液 各5 μl