SapphireAmp® Fast PCR Master Mix

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

Supplied Reagent:

dH_2O	**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℃ for long-term storage. 4℃ for short-term storage (up to 3 months).
(Note) If used frequently, store at 4℃ ; 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 μl 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 ～ 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 μl reaction volume) :

SapphireAmp Fast PCR Master Mix (2X Premix)		25 μl
Forward Primer		0.2 μM (final conc.)
Reverse Primer		0.2 μM (final conc.)
Template	human genomic DNA	50 - 100 ng
	plasmid DNA	100 pg - 10 ng
dH_2O		up to 50 μl

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℃, 1 min →	98℃	5 sec	30 cycles
	55℃	5 sec	
	72℃	10 sec/kb*	

* 5 sec for less than 1 kb

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

94℃, 1 min →	98℃	5 sec	30 cycles
	68℃	30 sec/kb	

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

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 6 kb の増幅を確認している。

● 保存：　－ 20℃（4℃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 μl 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 ～ 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）

SapphireAmp Fast PCR Master Mix (2 × Premix)		25 μl
Forward Primer		0.2 μM (final conc.)
Reverse Primer		0.2 μM (final conc.)
Template	ヒトゲノム DNA	50 ～ 100 ng
	またはプラスミド DNA	100 pg ～ 10 ng
dH_2O		up to 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.	├ 30 cycles
	72℃	10 sec./kb＊	┘

＊：1 kb 以下は 5 sec.

マウスおよびヒトゲノム DNA（2 kb ～ 6 kb）の場合
2 step PCR

94℃、1 min. →	98℃	5 sec.	┐
	68℃	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℃ 5 ～ 10 sec.、あるいは 94℃ 20 ～ 30 sec.。

v202110Da

タカラバイオ株式会社
ウェブサイト　https://www.takara-bio.co.jp

製品についての技術的なお問い合わせ先
テクニカルサポートライン
Tel　077-565-6999
Fax　077-565-6995