# SapphireAmp® Fast PCR Master Mix

**Code No. RR350Q**
**Size : 1 ml**
**(for 40 PCR reactions)**

**Shipping at − 20℃**
**Store at − 20℃**

**Components : (for 160 reactions)**

| | |
|---|---|
| **SapphireAmp® Fast PCR Master Mix (2X Premix)** | **1 ml** |
| **$dH_2O$** | **1 ml** |

**Lot No.**

**Storage : − 20℃ (at 4℃ for 3 months)**

**Please store Master Mix at 4℃ after thawing because the activity of the Master Mix may decrease by repeated freeze/thaws. Please mix gently and centrifuge briefly before each use.**

**Description :**
SapphireAmp® Fast PCR Master Mix (2X Premix) is a premixed, 2-fold concentrated PCR reaction mixture suitable for amplification of DNA at the extension rate of 10 seconds/kb. This mixture is composed of a PCR enzyme for Hot Start PCR, dNTP Mixture, and buffer which are optimized for high-speed PCR. The master mix also contains a blue dye and a material for increasing the specific gravity of the solution thus enabling direct loading on an agarose gel for electrophoresis. PCR efficiency is greatly improved by the master mix format, simply add your primers, template, and begin the cycling process. Once the amplification is complete, the reactant can be applied directly to an agarose gel for electrophoresis.

This product is very useful for examining an insert fragment (recommended for less than 5 kb) by colony-directed PCR of *E. coli* recombinant cells, and for obtaining the result quickly (about 1 hour 15 minutes for 5 kb amplification). Furthermore, it is possible to amplify up to a 6 kb DNA fragment when using human genomic DNA as a template.

**Application :**
・DNA amplification by Polymerase Chain Reaction (PCR)
・Colony PCR

**PCR test :**
Good enzyme performance was confirmed by PCR amplification using human genome DNA (amplified fragment : 6 kb) as templates.

**General reaction mixture for PCR (Total 50 μl) :**

| | | |
|---|---|---|
| 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 or | 50 - 100 ng |
| | plasmid DNA | 100 pg - 10 ng |
| $dH_2O$ (Sterilized distilled water) | | up to 50 μl |

**PCR product :**
As most PCR products amplified with SapphireAmp® Fast PCR Master Mix have one A added at 3'-termini, the obtained PCR product can be directly used for cloning into a T-vector. It is also possible to clone the product in blunt-end vectors after blunting and phosphorylation of the end.

**Dye marker at electrophoresis :**
When 5 μl of a reactant is loaded on a 1% TaKaRa Agarose L03 gel for electrophoresis, the blue markers are detected at positions corresponding to 1 kb and 3-5 kb. The dyes have absorptions at around 260nm and 620nm, respectively. The dyes may be removed by cutting out the gel or extracting DNA by NucleoSpin Extract II, if necessary.

**PCR Condition (example) :**
3 step PCR (human or mouse genomic DNA : <2 kb, bacterial genome DNA : <6 kb, colony PCR : <6 kb)

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 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 | |

**Application :**
A Mouse cDNA library, with insert lengths 0.5 - 5 kb, was constructed with pUC118. Colony-directed PCR was performed to check inserts.
(1) The PCR reaction mixture was prepared as shown below, then 50 μl of the mixture was dispensed in each PCR tube.

For reaction of 8 samples :

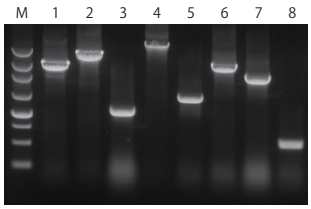
| | One reaction | For 9 reactions |
|---|---|---|
| SapphireAmp® Fast PCR Master Mix (2X Premix) | 25 μl | 225 μl |
| M13 Primer M4 (20 μM) | 0.5 μl | 4.5 μl |
| M13 Primer RV (20 μM) | 0.5 μl | 4.5 μl |
| $dH_2O$ | 24 μl | 216 μl |

(2) A very small amount of the recombinant colony was picked with a sterilized micropipette tip, and was then suspended in the PCR reaction mixture that was prepared and dispensed into PCR tubes. The PCR reaction was performed following the condition below.

PCR condition :

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 94℃ | 1 min. | → | 98℃ | 5 sec. | 30 cycles (PCR : 1 hr 11 min. TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice®) |
| | | | 55℃ | 5 sec. | |
| | | | 72℃ | 40 sec. | |

**Electrophoresis :**
The PCR products were confirmed by electrophoresis.




1 - 8 : Colony PCR
M : 250 bp DNA Ladder (Dye Plus)
Load 5 μl of the reaction.
1% Agarose L03

NOTICE TO PURCHASER: LIMITED LICENSE
**[L15] Hot Start PCR**
Licensed under U.S. Patent No. 5,338,671 and 5,587,287 and corresponding patents in other countries.

**[M57] LA Technology**
This product is covered by the claims 6-16 of U.S. Patent No. 5,436,149 and its foreign counterpart patent claims.

**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 77 543 7247 or from our website at www.takara-bio.com.

Produced by TAKARA BIOTECHNOLOGY (DALIAN) CO., LTD.

v201012Da

# SapphireAmp® Fast PCR Master Mix

**Code No. RR350Q**
**Size：1 ml**
**（for 40 PCR reactions）**

**Shipping at − 20℃**
**Store at − 20℃**

**製品内容：（160 反応分）**

| | |
|---|---|
| **SapphireAmp Fast PCR Master Mix (2 × Premix)** | **1 ml** |
| **$dH_2O$** | **1 ml** |

**Lot No.** **（英文面をご覧ください。）**

**保存：− 20℃（4℃で 3 か月保存可能）**
**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、いったん融解したものは 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。**

**●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。

**● 用途**
・DNA、cDNA の PCR 増幅
・コロニー PCR 等

**● PCR 検定**
ヒトゲノム DNA を鋳型とした PCR 反応（増幅産物 6 kb）において良好な増幅が見られることを確認している。

**● 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。

**● 色素マーカーについて**
反応液 5 μl を 1% Agarose L03 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 Extract II 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 |
| $dH_2O$（滅菌水） | | up to 50 μl |

**● PCR 条件（例）**
マウスおよびヒトゲノム（～ 2 kb）細菌ゲノム（～ 6 kb）コロニー PCR（～ 6 kb）の場合
3 step PCR

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 94℃ | 1 min. | → | 98℃ | 5 sec. | 30 cycles |
| | | | 55℃ | 5 sec. | |
| | | | 72℃ | 10 sec./kb ＊ | |

＊：1 kb 以下は 5 sec

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

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 94℃ | 1 min. | → | 98℃ | 5 sec. | 30 cycles |
| | | | 68℃ | 30 sec./kb | |

**●アプリケーション**
マウス cDNA 由来 pUC118 ライブラリー（0.5 kb ～ 5 kb のフラグメントを挿入）を形質転換した大腸菌コロニーに対し、コロニー PCR によるインサートチェックを行った。
（1）反応数＋α分のマスターミックスを調製し、50 μl ずつ PCR チューブに分注しておく。

例）8 サンプルの反応を行う場合

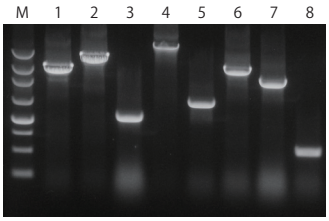
| | 1 反応分 | 9 反応分 |
|---|---|---|
| SapphireAmp® Fast PCR Master mix（2X Premix） | 25 μl | 225 μl |
| M13 Primer M4（20 μM） | 0.5 μl | 4.5 μl |
| M13 Primer RV（20 μM） | 0.5 μl | 4.5 μl |
| $dH_2O$（滅菌水） | 24 μl | 216 μl |

（2）大腸菌コロニーを滅菌マイクロチップの先でごく少量掻きとり、（1）の PCR チューブの試薬に懸濁して PCR を行う。

PCR 条件

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 94℃、1 min. | → | 98℃、5 sec. | 30 cycles | |
| | | 55℃、5 sec. | （PCR 所要時間：1 時間 11 分 | |
| | | 72℃、40 sec. | TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice® 使用） | |

電気泳動結果




1 ～ 8：コロニー PCR　　反応液 5 μl 泳動
M：250 bp DNA Ladder (Dye Plus)　　1% Agarose L03

電気泳動にて各種サイズ（0.5 kb ～ 5 kb）の増幅産物が得られることが確認できた。

**●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。

v201012Da

製品についての
技術的なお問い合わせ先 **TaKaRa テクニカルサポートライン** Tel 077-543-6116 Fax 077-543-1977