# SapphireAmp® Fast PCR Master Mix

Code No. RR3500 Size: 1 ml (for 40 PCR reactions)

Shipping at  $-20^{\circ}$ C Store at - 20°C

# **Components:**

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

#### Lot No.

# **Expiration Date:**

## 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 dve 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

#### PCR Test:

Good performance was confirmed by PCR amplification using human genomic DNA as a template (amplified fragment: 6 kb).

#### 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

#### Dye Migration During Electrophoresis:

When 5  $\mu$ I of the PCR sample is loaded on a 1% gel made with Agarose L03 (Cat. #5003) 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 $\mu$ l reaction volume):

SapphireAmp Fast PCR Master Mix (2X Premix) Forward Primer  $0.2 \mu M$  (final conc.) Reverse Primer  $0.2 \mu M$  (final conc.) human genomic DNA 50 - 100 na 100 pg - 10 na plasmid DNA dH<sub>2</sub>O (Sterile distilled water) up to 50  $\mu$ 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  $\boxed{\phantom{0}}$  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.

# NOTICE TO PURCHASER: LIMITED LICENSE

#### [P1] PCR Notice

Use of this product is covered by one or more of the following US patents and corresponding patent claims outside the US: 5,789,224, 5,618,711, 6,127,155 and claims outside the US corresponding to expired US Patent No. 5,079,352. The purchase of this product includes a limited, non-transferable immunity from suit under the foregoing patent claims for using only this amount of product for the purchaser's own internal research. No right under any other patent claim, no right to perform any patented method, and no right to perform commercial services of any kind, including without limitation reporting the results of purchaser's activities for a fee or other commercial consideration, is conveyed expressly, by implication, or by estoppel. This product is for research use only. Diagnostic uses under Roche patents require a separate license from Roche. Further information on purchasing licenses may be obtained by contacting the Director of Licensing, Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, USA.

#### [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 outside the U.S. corresponding to the expired U.S. Patent No. 5,436,149.

# 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. 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.

# SapphireAmp® Fast PCR Master Mix

Code No. RR3500 Size: 1 ml

(for 40 PCR reactions)

Shipping at  $-20^{\circ}$ C Store at - 20°C

# 製品内容:

SapphireAmp Fast PCR Master  $Mix(2 \times Premix)$ 1 ml dH<sub>2</sub>O 1 ml

Lot No. (英文面をご覧ください。) 品質保証期限 (英文面をご覧ください。)

#### ●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。

#### - 20℃ (4℃で 3 か月保存可能)

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

#### ● 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。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 (製品コード 5003) 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

#### ● 一般的な PCR 反応液組成(total 50 μl)

SapphireAmp Fast PCR Master Mix  $(2 \times Premix)$ 

Forward Primer 0.2 μM (final conc.) Reverse Primer  $0.2 \mu M$  (final conc.)

Template ヒトゲノム DNA  $50 \sim 100 \, \text{ng}$ またはプラスミド DNA  $100 \text{ pg} \sim 10 \text{ ng}$ up to 50  $\mu$ l

dH2O(滅菌水)

# ● 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 (~6kb) の場合 3 step PCR

94°C、1 min. → 98°C 5 sec. 30 cycles 55℃ 5 sec. 10 sec./kb\* 72℃ \*:1kb 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. → 98°C 5 sec. 30 cycles 68℃ 30 sec./kb

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℃  $20 \sim 30 \text{ sec.}$ 

#### ●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。

ライヤンスに関する最新の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。

v201311Da