

# EmeraldAmp™ PCR Master Mix

## 使用说明书

TaKaRa Code : DRR300A

包装量：1 ml×4 支。

50 µl 的 PCR 反应体系 160 次量，每次使用 25 µl。

### 制品说明

EmeraldAmp™ PCR Master Mix 是 PCR 反应应用各种试剂（酶、Buffer、dNTP Mixture 等）的 2 倍浓度的预混型制品。DNA Polymerase 使用了性能良好的 Hot Start 酶。使用本制品时，只需要在制品溶液中加入模板和引物便可进行 PCR 反应，简化了操作步骤，减少了 PCR 操作过程中的污染。并且，本制品中已含有电泳时必需的色素试剂（蓝色和黄色色素），PCR 反应后可以直接进行电泳。反应液为鲜艳的绿色（Emerald Green），电泳时指示效果明显，容易观察样品的电泳位置。

使用本制品扩增得到的 PCR 产物 3' 端附有一个“A”碱基，可直接克隆于 T-Vector 中。

本制品对 GC Rich 模板也能得到良好扩增，以人基因组 DNA 为模板可以扩增 10 kbp 的 DNA 片段。

### 制品内容

EmeraldAmp™ PCR Master Mix	1 ml×4 支
dH <sub>2</sub> O	1 ml×4 支

保存：-20°C（4°C 可以保存 3 个月）。

反复冻融活性可能降低，使用频率高时融解后请于 4°C 保存，使用前颠倒混匀，轻轻离心后使用。

### 用途

- 1) PCR 法扩增 DNA、cDNA。
- 2) 菌落直接 PCR 挑选阳性克隆。

### PCR 反应性能

以人基因组 DNA 为模板，可以很好扩增 8.5 kbp 的 DNA 片段。

### 电泳时色素 Marker 位置

反应液 5 µl，1% Agarose 电泳时，蓝色色素在 3~5 kbp 附近，黄色色素在 50 bp 以下位置。这些染料在 260 nm 和 420 nm 左右分别有吸收，建议使用切胶回收 DNA 以除掉色素染料，避免对后续实验造成影响。

### 通常 PCR 反应使用量

1. 按下列组份配制 PCR 反应液。

EmeraldAmp™ PCR Master Mix	25 µl
模板 DNA*	X µl
引物 1 (20 µM)	0.5 µl
引物 2 (20 µM)	0.5 µl
灭菌蒸馏水	up to 50 µl

\*【50 µl PCR 反应体系中模板 DNA 推荐使用量】

人基因组 DNA	50 ng ~ 100 ng
质粒 DNA	1 pg ~ 1 ng

2. PCR 反应条件。

### 3 Step PCR

98°C	10 sec	} 30 Cycles
55°C or 60°C*	30 sec	
72°C	1 min/kbp	

\* 扩增 GC Rich 模板时，退火温度可以使用 60°C。

### 2 Step PCR

98°C	10 sec	} 30 Cycles
68°C	1 min/kbp*	

\* 延伸时间设定在 15 min 以上时，扩增产物有时会产生 Smear 现象。

### 应用例

将插入 5 kbp 以上 DNA 片段的 pUC118 文库进行转化，对大肠杆菌菌落进行阳性克隆的筛选。

1. 配制样品数+1 量的 Master Mix（8 个反应样品时 Master Mix 需要配 9 个反应量），取配制好的 Master Mix 50 µl 分装到 0.2 ml 的 Microtube 中。

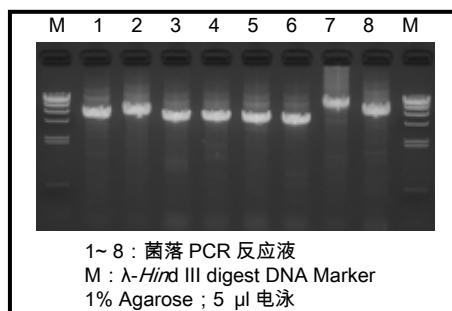
8 个反应样品时 Master Mix 中各组份的加入量如下：

各组份名称	1 个反应	9 个反应
EmeraldAmp PCR Master Mix	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 <sub>2</sub> O	24 µl	216 µl

2. 用灭菌的 10 µl 枪头蘸取少许大肠杆菌菌落，在上述分注好的 PCR 反应管内悬浊后进行 PCR 反应，PCR 反应条件如下：

98°C	10 sec.	} 30 Cycles
55°C	30 sec.	
72°C	6 min.	

3. 电泳结果。



通过电泳确认插入片段大小，选取 PCR 产物与目的片段大小一致的阳性菌落。

### NOTICE TO PURCHASER : LIMITED LICENSE

【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.