

SapphireAmp® Fast PCR Master Mix

使用说明书

TaKaRa Code : DRR350A

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

SapphireAmp® Fast PCR Master Mix 是适合于快速 PCR (延伸速度为 10 秒/kbp) 反应的各种试剂 (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。使用本制品只需要在制品溶液中加入模板和引物便可以进行 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所必需的色素试剂 (迁移速度不同的两种蓝色色素)，PCR 反应后可以直接进行电泳，大大提高了操作效率。本制品也适合大肠杆菌的菌落 PCR 检测 (推荐扩增 5 kbp 左右片段)，短时间内可以得到实验结果 (5 kbp 片段扩增所需时间约为 1 小时 15 分钟)。以人基因组 DNA 为模板可以扩增 6 kbp 的 DNA 片段。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。

制品内容

SapphireAmp Fast PCR Master Mix	1 ml×4 支
dH ₂ 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 6 kbp 的 DNA 片段。

电泳时色素 Marker 位置

反应液 5 µl, 1% Agarose 电泳时，两种蓝色色素分别在 1 kbp 和 3~5 kbp 附近。

PCR 反应液配制

SapphireAmp Fast 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	100 pg ~ 10 ng

PCR 反应条件 (例)

人、小鼠基因组 (~ 2 kbp) 及细菌基因组 (~ 6 kbp) 菌落 PCR 时

3 Step PCR

94°C	1 min	} 30 Cycles
98°C	5 sec	
55°C	5 sec	
72°C	10 sec/kbp*	

* 扩增片段在 1 kbp 以下时，设定为 5 sec。

人及小鼠基因组 (2 ~ 6 kbp) 时

2 Step PCR

94°C	1 min	} 30 Cycles
98°C	5 sec	
68°C	30 sec/kbp	

应用例

将插入小鼠 cDNA (0.5 ~ 5 kbp) 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：

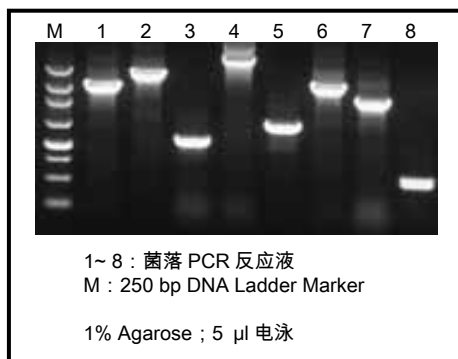
各组份名称	1 个反应	9 个反应
SapphireAmp Fast PCR Master Mix	25 µl	225 µl
M13 Primer M4 (20 µM)	0.5 µl	4.5 µl
M13 Primer RV (20 µM)	0.5 µl	4.5 µl
dH ₂ O	24 µl	216 µl

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：

94°C	1 min	} 30 Cycles
98°C	5 sec	
55°C	5 sec	
72°C	40 sec	

使用 TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice 反应时需要 1 小时 11 分钟。

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.

[L15] Hot Start PCR

Licensed under U.S. Patent No. 5,338,671 and 5,587,287, and corresponding patents in other countries.