EmeraldAmp® PCR Master Mix

| Code No. RR300A | Size: | 1 ml x 4 |
|-----------------|-------------------------|----------|
| | (for 160 PCR reactions) | |

Supplied Reagent: dH₂O

1 ml x 4

Description:

EmeraldAmp PCR Master Mix (2X Premix) is a premixed, 2 - fold concentrated PCR mixture composed of PCR enzyme for Hot Start PCR, reaction buffer and dNTP Mixture. In addition, this product also contains blue dye and yellow dye markers and a material for increasing specific gravity, useful in electrophoresis. Operation of PCR experiment is greatly simplified with using this product, in the points that PCR reaction can be done by only adding with primers and template DNA and that PCR product can be applied directly into electrophoresis analysis. The PCR reaction mixture shows vivid emerald green, therefore, its application into electrophoresis gel is easily performed.

This product is very useful for examining of an insert fragment by colony-directed PCR of *E. coli* recombinant cells, and also applicable to amplify GC-rich region of DNA. Furthermore, it is possible to amplify 10 kb of DNA fragment if used human genomic DNA as a template.

Storage: -20°C (at 4°C for 3 months)

(Note) Recommend to store at 4°C in case of used frequently, because the activity of the Master Mix may decrease by repeated freezethawing. Please use after gently mixing well, and briefly centrifuging.

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 product:

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

Dye marker at electrophoresis:

If 5 μ I of the reaction mixture is used for electrophoresis with 1% Agarose L03 [TAKARA] (Cat. #5003), the blue dye marker is detected near 3 - 5 kb and the yellow is below 50 bp. Those dyes have absorptions at around 260 nm and 420 nm, respectively, so it is recommended to remove the dye by cutting out the gel or extracting DNA by NucleoSpin Gel and PCR Clean-up (Cat. #740609.10/.50/.250).

General reaction mixture for PCR (Total 50 μ I):

| 25 µl |
|---------------------------|
| 0.2 μ M (final conc.) |
| 0.2 μ M (final conc.) |
| 50 - 100 ng |
| 1 pg - 1 ng |
| up to 50 μ l |
| |

PCR Conditions (example):

| 3 step PCR (- 6 kb): | 98℃ 55℃ or 60℃ ^{*1} 72℃ | 10 sec 30 sec 1 min/kb | ycles |
|-----------------------|--|---------------------------------------|-------|
| 2 step PCR (6 kb -): | 98℃ 68℃ | 10 sec 1 min/kb ^{*2} 30 c | ycles |

- * 1 Annealing temperature of 60°C may be better for amplification of GC-rich regions.
- *2 Amplified product may become smear if the extension time is set over 15 min.
- (Note) Denaturation conditions vary depending on the thermal cycler and tubes used for PCR. The recommendation is for 5 - 10 sec at 98°C, or 20 - 30 sec at 94°C.

EmeraldAmp is a registered trademark of Takara Bio Inc.

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 77 565 6973 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.

EmeraldAmp® PCR Master Mix

Code No. RR300A 容量: 1 ml×4 (160 回 PCR 反応分)

添付試薬: dH₂O

1 ml×4

● 製品説明

EmeraldAmp PCR Master Mix (2 × Premix) は、PCR に必要なコンポーネ ント(酵素、バッファー、dNTP Mixture 等)と、さらに電気泳動時に便 利な色素マーカー(青色と黄色の色素)、比重増加剤を含む2倍濃度のプ レミックス PCR 試薬であり、Hot Start PCR に対応している。プライマー と鋳型 DNA を加えるだけで簡単に PCR が行え、反応後は、反応液を直 接電気泳動解析に供することができ、操作が大幅に簡略化できる。反応 液は、鮮やかな緑色(Emerald Green)を呈しているので、ゲルへのアプ ライ確認が確実に行える。本製品は大腸菌のコロニーPCR によるインサー トチェックに最適であり、GC リッチな領域の増幅にも適している。また、 ヒトゲノム DNA を鋳型にした場合、10 kb まで増幅が可能である。

●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、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。

● 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のドキュメントセンターから 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/B)で泳動し た場合、青色マーカーは 3~5 kb 付近、黄色マーカーは 50 bp 以下の位 置に確認できる。

また、色素は 260 nm 付近、420 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 反応液量 (Total 50 μl)

| EmeraldAmp PCR Master Mix $(2 \times Premix)$ | 25 µl |
|---|---------------------------|
| Forward Primer | 0.2 μ M (final conc.) |
| Reverse Primer | 0.2 μ M (final conc.) |
| Template E ヒトゲノム DNA プラスミド DNA | $50\sim100$ ng |
| プラスミド DNA | 1 pg \sim 1 ng |
| dH2O | up to 50 μ l |

● PCR 条件 (例)

3 step PCR (~6 kb の場合)

98°C 10 sec. 55°C or 60°C * ¹ 30 sec. 72°C 1 min./kb 30 sec.

2 step PCR (6 kb ~の場合)

98℃ 10 sec. 68℃ 1 min./kb^{*2} 30 cycles

- *1:GC リッチなターゲットの場合、アニーリング温度は 60℃の方が 良い場合がある。
- * 2:伸長時間を 15 分以上に設定した場合、増幅産物がスメアする場合 がある。
- 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.。



タカラバイオ株式会社 ウェブサイト http://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 Fax 0

Tel 077-565-6999 Fax 077-565-6995

v201902Da