

Dye 첨가로 더욱 간단하고 편리해진 Pre-Mix type의 Fast PCR Master Mix

SapphireAmp™ Fast PCR Master Mix

- 10 초/kb의 고속 PCR 가능
- 5 kb 전후의 colony PCR이 불과 1 시간 만에 완료
- 비증증가제 및 Loading dye가 첨가된 완벽한 Premix type
- Hot Start 형태로 반응액을 실온에서 조제 가능

SapphireAmp™ Fast PCR Master Mix (TaKaRa Code RR350A)는 고속 PCR에 필요한 효소반응 조성과 agarose gel 전기영동에 필요한 Loading dye 및 비증증가제를 함유하고 있는 완벽한 Premix type의 시약이다. 10 초/kb의 신장 (Extension) 시간으로 고속 PCR이 가능하며, 일반적인 PCR 시약에 비하여 반응 소요 시간을 1/2 정도로 단축할 수 있다. Primer와 template DNA만을 첨가하여 간단하게 고속 PCR을 수행할 수 있어, 반응 후 반응액을 그대로 loading 하여 전기영동 하는 것이 가능하기 때문에 실험 효율이 크게 상승하였다. 또한, Hot Start PCR 효소를 사용하고 있기 때문에 실온에서도 반응액을 만들 수 있다. Colony PCR을 통한 재조합 대장균의 insert check (5 kb 전후까지의 증폭 추천)에도 적당하며, 5 kb의 증폭을 약 1 시간에 완료할 수 있다.

■ 내용 (160 회 : 50 µl 반응계)

SapphireAmp™ Fast PCR Master Mix (2 x Premix)	1 ml x 4
dH ₂ O	1 ml x 4

■ 실험에 1: Colony PCR에 의한 Insert 확인

【방법】

Mouse cDNA Library (pUC118 vector에 0.5 ~ 5 kb fragment를 삽입)에서 형질전환 하여 얻은 대장균 colony를 random picking 하여 M4 primer와 RV primer를 이용하여 본 제품으로 colony PCR을 수행하여 insert size를 확인하였다.

【결과】

조사한 16 colony 전부에 걸쳐서 0.5 ~ 5 kb의 insert를 확인할 수 있었고 (그림 1) 반응 소요 시간은 불과 1 시간 정도 걸렸다. 또한, 여기서 보인 colony PCR 실험은 제품 protocol에 따라서 50 µl 반응계에서 수행하였습니다. 20 ~ 25 µl의 반응계에서도 양호하게 증폭되었다.

SapphireAmp™ Fast PCR Master Mix는 간편하고도 확실한 고속 colony PCR을 수행할 수 있으며 대폭적인 시간 단축을 할 수 있다.

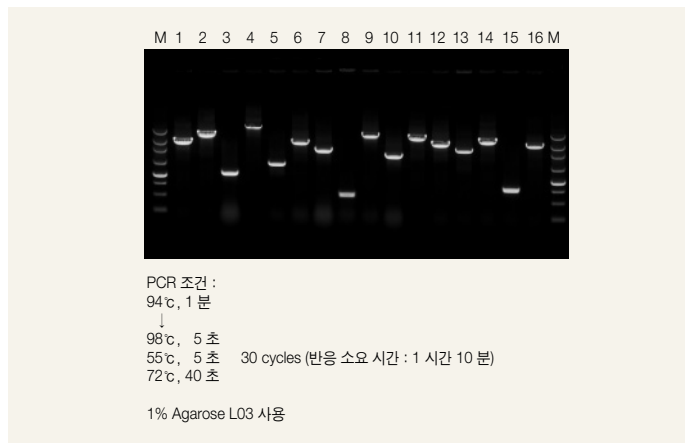


그림 1. Colony PCR로 insert size 확인

Lane 1 ~ 16: colony PCR (반응액 5 µl를 loading)

M : 250 bp DNA Ladder (Dye Plus)

기기: TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice® Gradient (Model 1 ; TaKaRa Code TP600)

■ 실험에 2: Human genome DNA를 template로 한 여러 가지 target 증폭

【방법】

본 제품을 이용하여 human genome DNA 100 mg을 주형으로 여러 가지 영역의 PCR 증폭을 수행하였다. 또한, 색소가 첨가된 Premix type의 타사 PCR 제품에 대하여도 각각 추천 조건으로 PCR 증폭을 수행하고 증폭 결과와 소요 시간을 비교하였다.

【결과】

SapphireAmp™ Fast PCR Master Mix 사용 시 반응 소요 시간은 타사 제품에 비하여 약 1/4 ~ 1/2로 (표 1), 실험에 걸리는 시간을 대폭 단축할 수 있었다. 또한, 각 증폭 길이 (0.5 ~ 6 kb)에 있어도 양호한 target 증폭을 확인할 수 있었다 (그림 2).

표 1. TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice® (Model 1)를 사용한 경우의 대략적인 반응 소요 시간

증폭길이	SapphireAmp™ Fas	A사 시약	B사 시약
0.5 kb	50 분	1 시간 35 분	1 시간 30 분
1.0 kb	55 분	1 시간 50 분	1 시간 45 분
2.0 kb	1 시간	2 시간 20 분	2 시간 15 분
4.0 kb	1 시간 30 분	3 시간 20 분	3 시간 15 분
6.0 kb	2 시간	4 시간 20 분	4 시간 15 분

Dye 첨가로 더욱 간단하고 편리해진 Pre-Mix type의 Fast PCR Master Mix

SapphireAmp™ Fast PCR Master Mix

Continued...

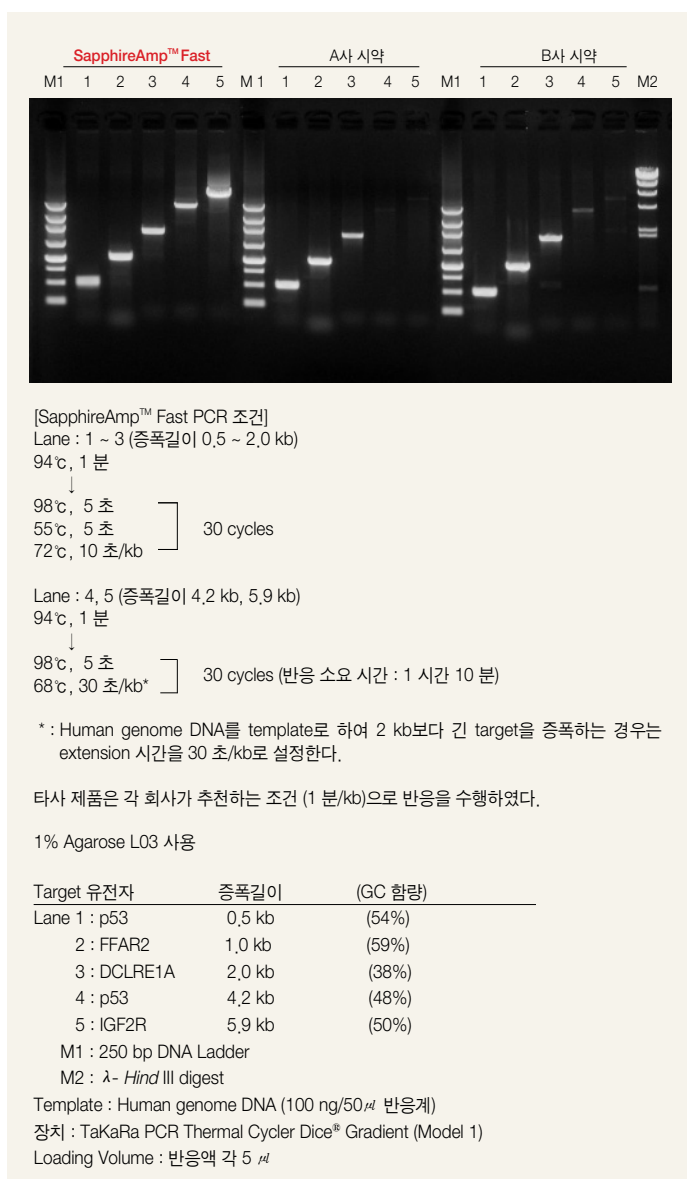


그림 2. Human genome DNA를 template로 한 여러 가지 target 증폭

SapphireAmp™ Fast PCR Master Mix는 colony PCR을 비롯하여 약 5 kb까지의 target을 고속으로 증폭하기 위한 PCR에 권장할 수 있는 Premix 시약이다. Target 서열이 GC-rich인 경우 및 긴 단편을 증폭하고 싶은 경우에는 고성능 형태의 Premix 시약인 EmeraldAmp™ PCR Master Mix 사용을 권장한다.

■ 관련제품

제품명	용량	TaKaRa Code
100 bp DNA Ladder (Dye Plus)	500 μl (100 회)	3422A
	500 μl × 2 (200 회)	3422B
250 bp DNA Ladder (Dye Plus)	500 μl (100 회)	3424A
	500 μl × 2 (200 회)	3424B
1 kb DNA Ladder (Dye Plus)	500 μl (100 회)	3426A
	500 μl × 2 (200 회)	3426B
TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice® Gradient	1 대	TP600
TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice® Standard	1 대	TP650
EmeraldAmp™ PCR Master Mix	160 회(50 μl 반응 시)	RR300A

* License Notice : [3, 19, 20, 21]