

STOUT™-Red PCR Master Mix (2.5x)

Ordering info

TBK0025, 5 reacciones (muestra)

TBK0027, 8 x 1 mL (400 reacciones)

TBK0026, 4 x 1 mL (200 reacciones)

Description

STOUT™ - Red PCR Master Mix (2.5x) is an optimized formulation to enable successful amplification in a process with reduced manipulation. The formula contains MgCl₂, pure High-Q™ dNTPs, PCR enhancer and our highly purified thermostable STOUT™ Recombinant Taq DNA Polymerase. The master mix is a dense solution for direct loading of PCR products onto agarose gel and it includes a tracking dye to monitor the sample electrophoresis.

Features

- **Ready to use**, avoiding mistakes in PCR reaction preparation.
- **Optima formulation** in routine PCR, requiring to add only specific primers and template.
- **High Thermostability**, the enzyme half-life at 94 °C is 40 minutes.
- **TA Cloning**, addition of 3'adenine at the end of PCR fragment.
- Error Rate 1–20x10⁻⁵ errors/bp per cycle.

Applications

- Daily research: standard PCR for targets up 5kb, recombinant clone or cell line checking, etc.
- Direct PCR from bacterial colonies.
- Generation of PCR fragments for TA cloning.

Kit Components

Components	TBK0026	TBK0027
STOUT™-Red PCR Master Mix (2.5x)	4 x 1 mL	8 x 1 mL
PCR Grade Water, nuclease free	2 x 2 mL	4 x 2 mL

Order Info Kit Components: PCR Grade Water, nuclease free (TBB0303).

Storage

Store at -20°C. Shipped in blue ice.

Unit Definition

One unit of STOUT™ Recombinant Taq DNA polymerase catalyzes the incorporation of 10 nanomoles of dNTPs into acid-insoluble material in 30 minutes at 74 °C.

Quality Control

Functionally tested in a 1kb PCR amplification (GC 52%).

Material required (not supplied)

- PCR Tubes.
- Primers.

PROTOCOL

I. PREPARING REACTIONS

1. Gently vortex and briefly centrifuge STOUT™-Red PCR Master Mix (2.5x).
2. Place a tube on ice and add the following components for each 50 µL reaction. Prepare sufficient master mix for the number of reactions. Consider one or two extras:

Components	Volume	Final Concentration
STOUT™-Red PCR Master Mix (2.5x)	20 µL	1x
Forward primer 15 µM (15 pmol/µL)	1 µL	0.75 µM
Reverse primer 15 µM (15 pmol/µL)	1 µL	0.75 µM
PCR Grade Water, nuclease-free	up 50 µL	
Template DNA		**
Final Volume	50 µL	

** Optimal amounts of template DNA are 10-30 ng for both plasmid and phage DNA, and 0.3- 1 µg for genomic DNA.

3. Aliquot the master mix into individual PCR tubes.
4. Gently vortex and spin down the samples. Add template DNA.

II. PCR SETUP

1. Perform PCR using recommended thermal cycling conditions:

Step	Cycles	Temperature	Time
Initial denaturation	1 x	94 °C	5:00
Denaturation		94 °C	0:35
Annealing	25 - 30 x	T _m	0:35
Extension		72 °C	1:00 per kb
Final Extension	1 x	72 °C	10:00
Conservation	1 x	4 °C	∞

2. Store the samples at -20°C until use.
3. Load the samples on an agarose gel.

In a 0.7% agarose gel, the red dye migrates at approximately 2 kb bands in TAE 1x buffer.

STOUT™-Red PCR Master Mix (2,5x)

Referencias

TBK0025, 5 reacciones (muestra)

TBK0027, 8 x 1 mL (400 reacciones)

TBK0026, 4 x 1 mL (200 reacciones)

Descripción

STOUT™ - Red PCR Master Mix (2,5x) es una formulación optimizada que permite una manipulación reducida en la preparación de la PCR y en la aplicación de las muestras en un gel de electroforesis. La formulación, que garantiza una excelente amplificación, incluye MgCl₂, High-Q™ dNTPs ultrapuros, potenciadores de la amplificación y la polimerasa termoestable de alta pureza, STOUT™ Recombinant Taq DNA Polymerase. La Master Mix es una solución densa que incluye un colorante de seguimiento de la migración y permite cargar directamente el producto de amplificación en un gel.

Características

- **Listo para usar**, evitando errores en la preparación de la reacción de la PCR.
- **Formulación óptima** para PCRs de rutina, requiriendo solo la adición de los oligonucleótidos y el molde.
- **Alta termoestabilidad**, el tiempo de vida media de la enzima a 94°C es de 40 minutos.
- **Clonación TA**, los fragmentos de PCR amplificados incluyen adenina en el extremo 3'.
- Rango de error 1–20x10⁻⁵ errores/pb por ciclo.

Aplicaciones

- PCR estándar para amplicones de hasta 5 kb, comprobación de líneas celulares, clones recombinantes, etc.
- PCR directa de colonias de bacterias.
- Generación de fragmentos de PCR para clonación TA.

Componentes

Componentes	TBK0026	TBK0027
STOUT™-Red PCR Master Mix (2.5x)	4 x 1 mL	8 x 1 mL
PCR Grade Water, nuclease free	2 x 2 mL	4 x 2 mL

Referencia Componentes: PCR Grade Water, nuclease free (TBB0303).

Almacenaje

Conservar a -20°C.

Producto enviado con hielo azul.

Definición de Unidad Enzimática

Una unidad de STOUT™ Recombinant Taq DNA polymerase cataliza la incorporación de 10 nanomoles de dNTPs en 30 minutos a 74 °C.

Control de Calidad

Análisis funcional, amplificación por PCR de un fragmento de 1 kb, contenido GC 52%.

Material requerido (no incluido)

- Tubos de PCR.
- Oligonucleótidos.

PROTOCOLO

I. PREPARACIÓN DE LAS REACCIONES

1. Dar un vortex suave y un spin al tubo de STOUT™-Red PCR Master Mix (2,5x).
2. Colocar un tubo en hielo y añadir los siguientes componentes para una reacción con 50 µL de volumen final. Preparar suficiente mezcla para el número de reacciones que vaya a realizar. Incluya en sus estimaciones, 1 o 2 reacciones extra:

Componentes	Volumen	Concentración Final
STOUT™-Red PCR Master Mix (2,5x)	20 µL	1x
Primer F, 15 µM (15 pmol/µL)	1 µL	0,75 µM
Primer R, 15 µM (15 pmol/µL)	1 µL	0,75 µM
PCR Grade Water, nuclease-free	hasta 50 µL	
ADN Molde		**
Volumen Final	50 µL	

** La cantidad óptima de molde es de 10-30 ng de ADN para plásmidos y fagos, y 0,3- 1 µg para ADN genómico.

3. Alicuotar la mezcla preparada en tubos de PCR individuales.
4. A la muestra de ADN, vortex suave y spin. Añadir al tubo correspondiente.

II. PCR

4. Realice la PCR utilizando las condiciones recomendadas:

Pasos	Ciclos	Temperatura	Tiempo
Desnaturalización	1 x	94 °C	5:00
Desnaturalización		94 °C	0:35
Anillamiento	25 - 30 x	Tm	0:35
Extensión		72 °C	1:00 per kb
Extensión Final	1 x	72 °C	10:00
Conservación	1 x	4 °C	∞

5. Conservar las muestras a -20°C hasta su uso.
6. Cargar las muestras en un gel de agarosa.
En un gel de agarosa al 0,7%, el colorante rojo de seguimiento migra aprox. a la altura de la banda de 2 kb en Buffer TAE 1x.