

STOUT™-Green PCR Master Mix (2x)

Ordering info

TBK0031, 5 reactions (sample)

TBK0032, 4 x 1.25 mL (200 reactions)

TBK0033, 8 x 1.25 mL (400 reactions)

Description

STOUT™-Green PCR Master Mix (2x) is an optimized formulation to enable successful amplification in a process with reduced manipulation. The formula contains MgCl₂, pure 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 two tracking dyes 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.
- Generation of PCR fragments for TA cloning.

Kit Components

Components		TBK0032	TBK0033
STOUT™-Green Master Mix (2x)	PCR	4 x 1.25 mL	8 x 1.25 mL
PCR Grade Water, nuclease free		3 x 2 mL	5 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™-Green PCR Master Mix (2x).
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™-Green PCR Master Mix (2x)	25 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. Gently vortex and spin down the mix. Aliquot the mix into individual PCR tubes.
4. 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	Tm	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 an 0.7% agarose gel, blue dye migrates at 8,000 bp while yellow dye migrates at 100 bp in TAE 1x buffer.

STOUT™-Green PCR Master Mix (2x)

Referencias

TBK0031, 5 reacciones (muestra)

TBK0032, 4 x 1,25 mL (200 reacciones)

TBK0033, 8 x 1,25 mL (400 reacciones)

Descripción

STOUT™ - Green PCR Master Mix (2x) es una formulación optimizada para permitir una amplificación exitosa con una manipulación reducida. La fórmula contiene MgCl₂, dNTPs puros, un potenciador de PCR y nuestra altamente purificada STOUT™ Taq ADN polimerasa recombinante termorresistente. STOUT™ - Green PCR Master Mix es una solución densa para la carga directa de productos de PCR en gel de agarosa e incluye dos colorantes de seguimiento para monitorear la electroforesis de las muestras.

Características

- **Lista para usar**, evitando errores en la preparación de reacciones de PCR.
- **Formulación óptima** en PCR de rutina, requiriendo solo la adición de los primers específicos y el molde.
- **Alta termoestabilidad**, el tiempo de vida media de la enzima a 94 °C es de 40 minutos.
- **Clonación TA**, adición de adenina en el extremo 3' del producto de PCR.
- Rango de Error 1–20x10⁻⁵ errores/pb por ciclo.

Aplicaciones

- PCR estándar para moldes de hasta 5 kb, comprobación de clones recombinantes o líneas celulares, etc.
- Generación de fragmentos de PCR para clonación TA.

Componentes

Componentes	TBK0032	TBK0033
STOUT™-Green PCR Master Mix (2x)	4 x 1,25 mL	8 x 1,25 mL
PCR Grade Water, nuclease free	3 x 2 mL	5 x 2 mL

Referencias Componentes: PCR Grade Water, nuclease free (TBBo303).

Almacenaje

Conservar a -20°C. Se envía en hielo azul.

Definición de Unidad

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

Control de Calidad

Funcionalmente testado en una amplificación por PCR de 1kb (GC 52%).

Material requerido (no suministrado)

- Tubos de PCR.
- Primers.

PROTOCOLO

I. PREPARACIÓN DE LAS REACCIONES

1. Dar un vortex suave a los tubos y centrifugar brevemente la STOUT™-Green PCR Master Mix (2x).
2. Colocar un tubo en hielo y añadir los siguientes componentes por cada 50 µL reacción. Preparar suficiente mezcla en función del número de reacciones que necesite. Considere una o dos reacciones extra:

Componentes	Volumen	Concentración Final
STOUT™-Green PCR Master Mix (2x)	25 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	
ADN Molde		**
Volumen Final	50 µL	

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

3. Dar un vortex suave y centrifugar brevemente la mezcla. Alicuotar la mezcla en tubos individuales de PCR.
4. Añadir el ADN molde.

II. PCR

1. Realizar la PCR usando las condiciones recomendadas:

Pasos	Ciclos	Temperatura	Tiempo
Desnaturalización Inicial	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	∞

2. Conservar las muestras a -20°C hasta su uso.
3. Cargar las muestras en un gel de agarosa.

En un gel de agarosa 0,7%, el compuesto azul migra a la altura de la banda de 8,000 pb mientras que el compuesto amarillo migra a la altura de 100 pb usando Buffer TAE 1x.