



EzAmp[®] Classic Taq DNA Polymerase 说明书

货号:NH9001

规格:5U/ μ L

说明: 本产品成分含 EzAmp[®] Classic Taq DNA 聚合酶及其保存 Buffer。另配套提供 5 \times PCR Buffer (MgCl₂ free) 及 MgCl₂ (100 mM)。收到本产品后, 请立即保存于 -20 $^{\circ}$ C 恒温冰箱。

用途: 本品采用经典化学修饰技术制备而成, 用于高灵敏度、高特异性 PCR 扩增。

储存条件及有效期: -20 $^{\circ}$ C 保存, 有效期为 18 个月。

使用方法

- EzAmp[®] Classic Taq DNA Polymerase 需经过 95 $^{\circ}$ C 10 分钟的热启动步骤。
 - EzAmp[®] Classic Taq DNA Polymerase 经过前期可逆性化学修饰失活, 使其在室温条件下不会发生非特异性扩增, 因此实验准备过程无需将 PCR 反应管置于冰浴中操作。
 - 每次实验应设置一组无模板 DNA 的空白对照 (NTC)。
- 1、 根据 PCR 所需准备相关试剂, 并务必保证以上试剂在使用前充分混合均匀, 避免浓度的局部差异。
 - 2、 根据表 1 制备反应混合液。通用的反应混合液一般包括除模板 DNA 外的其他所有的 PCR 必需成分。请根据每次 PCR 反应数量的实际需要量额外多制备 10% 的余量。

表 1. PCR 反应体系

组分	加入量/反应	终浓度
5 \times PCR Buffer (MgCl ₂ free)	10 μ l	1 \times
MgCl ₂ (100 mM)	0.75-1.5 μ l	1.5-3.0mM
dNTP mix (10 mM of each)	1 μ l	200 μ M of each dNTP
Primer A	Variable	0.1 - 0.5 μ M
Primer B	Variable	0.1 - 0.5 μ M
EzAmp [®] Classic Taq DNA Polymerase	0.5 μ l	2.5 units/reaction
Distilled water	Variable	-
Template DNA (added at step 4)	Variable	\leq 1 μ g/reaction
Total reaction volume	50 μ l*	-

*可根据不同反应体积, 按比例调整各组分加入量。

- 3、 轻柔振荡反应混合液充分混合均匀, 可用移液器反复多次吸吹。根据每个 PCR 反应体积, 分别量取所需量分装至各 PCR 反应管。
- 4、 在装有反应混合液的各 PCR 反应管中, 加入模板 DNA (\leq 1 μ g/100 μ l reaction)。



若进行 RT-PCR，加入逆转录反应产物。

- 5、 根据不同制造商、不同型号 PCR 仪的具体使用说明，编写循环加热程序。一般性通用的循环加热程序可参考表 2。如需最大限度提高产率和特异性，建议根据具体使用的不同模板和引物，对 PCR 程序中的温度和循环次数进行进一步优化。
注意：每一个 PCR 程序务必从 95℃ 10 分钟热启动步骤开始。
- 6、 把 PCR 反应管置于 PCR 仪中，启动循环加热程序。
注意：扩增结束后，样品可在 2-8℃ 条件下放置过夜或者 -20℃ 条件下放置更长时间。

表 2. PCR 循环参数

步骤	时间	温度	说明
初始热启动	10 分钟	95℃	激活 EzAmp® Classic Taq DNA Polymerase
3 步循环			
变性	0.5-1 分钟	94℃	
退火	0.5-1 分钟	50-68℃	退火温度大约为引物 $T_m-5^\circ\text{C}$ ，可根据实际需要进行调整
延伸	1 分钟	72℃	PCR 产物大于 1kb 时，延伸时间大约为 1 分钟/1kb DNA
循环次数	25-35		
最终延伸	10 分钟	72℃	

注意事项

本品仅用于科研。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品。

联系方式

苏州新海生物科技股份有限公司 NuHigh Biotechnologies Co., Ltd

地址：苏州工业园区星湖街 218 号生物纳米科技园 C8 楼 301

单元 邮编：215123 电话：0512-69561912 传真：0512-69561913

网址：www.nuhighbio.com