

**NuHi® SEQTaqV 说明书**

货号: NH9106

规格: 5 U/ μ l**说明**

本产品包含: NuHi® SEQTaqV。收到本产品后, 请立即保存于-20℃。

需要与 Thermo Fisher 公司生产的 BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit 配合使用, 可提高 BigDye® Terminator v3.1 的稀释倍数, 从而降低测序成本, 改善测序信号的衰减情况, 并显著缩短延伸时间至 **2min**。

用途

本产品为测序专用酶, 需要与 Thermo Fisher 公司生产的 BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit 配合使用。

储存条件

请于-20℃保存。建议分装保存。

本品可与 BigDye® Terminator v3.1 (2.5 \times)和 BigDye® 5 \times Sequencing Buffer 混合, 置于 2-8℃ 可稳定保存 7 天。

使用方法

1、务必保证试剂在使用前充分颠倒混匀, 避免浓度的局部差异。

2、配制反应混合液

每个测序反应中, 建议加入 NuHi® SEQTaqV (5 U/ μ l) **0.1 μ l/反应**。如果效果不理想, 建议在 0.2U-1U/反应的范围内筛选, 确定合适的酶量。

为简化操作, 建议将 BigDye® Terminator v3.1、5 \times Sequencing Buffer、NuHi® SEQTaq V 预混形成 Premix。

3、反应体系组成参考表 1 (以 10 μ l 反应体系为例)。DNA 模板量可参考表 2。

表 1. 反应体系组成

Component		稀释倍数: 16 Volume	稀释倍数: 12 Volume	稀释倍数: 8 Volume
Premix ³ 4 μ l	BigDye® Terminator v3.1 (2.5 \times)	0.25 μ l	0.33 μ l	0.5 μ l
	BigDye® 5 \times Sequencing Buffer	2 μ l		
	NuHi® SEQTaqV (5 U/ μ l)	0.04-0.2 μ l		
	H ₂ O	Add H ₂ O to 4 μ l		
Template ¹	质粒 100-300ng; PCR 产物 1-50ng			
Primer ²	3-10pmol			
H ₂ O	Add H ₂ O to 10 μ l			
Total reaction volume		10 μl		



¹加入的模板量可依据模板类型调整。可参考表 2，也可依据测序反应调整。

²加入的引物量可依据要求调整。

³Premix 体积可根据需要调整，只需调整水的体积，不需要改变其余三种成分的体积。

表 2. 测序 DNA 模板用量

PCR 产物	模板量
100-500 bp	1-5 ng
500-2000 bp	5-20 ng
> 2000 bp	20-50 ng
质粒	100-300 ng

- 4、轻柔振荡反应混合液，充分混合均匀。
- 5、将反应混合液分装至 PCR 反应管中，加入模板 DNA、引物。
- 6、设定反应程序。**建议延伸时间 2 分钟。**
- 7、把反应管置于 PCR 仪中，启动程序。
- 8、反应结束后，将反应产物从 PCR 仪中取出。
- 9、测序产物纯化的试剂和步骤，可依据现有测序产物纯化方法进行。

注意事项

1、本品含酶，不含反应底物（如 ddNTPs），需要与 BigDye® Terminator v3.1 联合使用。

2、本品可与 BigDye® Terminator v3.1 (2.5 ×)和 BigDye® 5×Sequencing Buffer 混合，置于 2-8℃可稳定保存 7 天。如果与其他厂家生产的 Sequencing Buffer 混合保存，需要测试混合物的稳定性。

3、由于乙醇是酶的抑制剂，所以，在使用柱法提纯质粒或 PCR 产物时，**建议在洗脱前尽量去除乙醇**。建议将离心柱（96 孔板）置于烘箱中干燥去除乙醇，经测试 60℃烘干 10-20min 可有效去除乙醇，且不影响洗脱效率。

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