

## 产品概述

Robustart Taq (BR1) 是在我公司抗体修饰热启动 Taq 酶基础上, 经工艺改进获得的、可适用于数字 PCR (ddPCR) 的新一代热启动 Taq 酶产品。搭配适用于 PCR/qPCR/ddPCR 的优化 Buffer, 可有效促进 ddPCR 中液滴的均匀生成, 使其不易发生融合。本产品不但具有优良的特异性, 对低浓度模板的扩增更加有效; 而且具有很好的体系适用性, 在不同类型的 PCR 反应中均可以获得稳定的扩增效果。

## 规格

5 U/ $\mu$ L

## 试剂组成

1. 5 U/ $\mu$ L Robustart Taq (BR1)
2. 10 $\times$ PCR Buffer ( $Mg^{2+}$  free) (BR1) (选配)
3. 25 mM  $MgCl_2$  (选配)

\*10 $\times$ PCR Buffer ( $Mg^{2+}$  free) (BR1) 不含 dNTP 和  $Mg^{2+}$ , 配制反应体系时请加入 dNTPs 和  $MgCl_2$  使用。

## 活性定义

在 74°C、30 min 内, 以活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物, 将 10 nmol 脱氧核苷酸掺入到酸不溶物质所需要的酶量为 1 个活性单位 (U)。

## 保存条件

-20°C 长期保存, 使用前应混匀, 避免反复冻融。

## 质量控制

1. SDS-PAGE 电泳纯度大于 98%。
2. 扩增灵敏度、批间差异、稳定性。
3. 无外源核酸酶活性, 无外源内切、外切核酸酶污染。

## PCR 反应体系配制

Component	Volume per Reaction	Concentration in Master Mix
10 $\times$ PCR Buffer ( $Mg^{2+}$ free) (BR1) <sup>1</sup>	5 $\mu$ L	1 $\times$
dNTPs (10 mM each dNTP)	1 $\mu$ L	200 $\mu$ M
25 mM $MgCl_2$	2~8 $\mu$ L	1~4 mM
5 U/ $\mu$ L Robustart Taq (BR1)	0.25~0.5 $\mu$ L	1.25~2.5 U
25 $\times$ Primer Mix <sup>2</sup>	2 $\mu$ L	1 $\times$
Template	—	< 1 $\mu$ g/reaction
ddH <sub>2</sub> O	To 50 $\mu$ L	—

1. 该 Buffer 不含 dNTP 和  $Mg^{2+}$ , 必须补充加入 dNTPs 和  $MgCl_2$  使用。
2. 若用于 qPCR/qRT-PCR, 则需加入荧光探针到反应体系中。通常引物终浓度为  $0.2 \mu M$  可以得到较好结果; 反应性能较差时, 可以在  $0.2 \sim 1 \mu M$  范围内调整引物浓度。通常探针浓度在  $0.1 \sim 0.3 \mu M$  范围内优化。可进行浓度梯度的实验, 寻找引物和探针的最佳组合。

## 反应条件

两步法				三步法			
步骤	温度	时长	循环数	步骤	温度	时长	循环数
热启动	95°C	1~5 min	1	热启动	95°C	1~5 min	1
变性	95°C	10~20 s	35~50	变性	95°C	10~20 s	35~50
退火延伸	56~64°C	20~60 s		退火	56~64°C	10~30 s	
				延伸	72°C	10~60 s	

## 技术说明

1. 适用于 PCR/qPCR/ddPCR, 可用于低拷贝靶标的高灵敏度扩增检测、多重 PCR 扩增反应。
2. 能够采用 95°C 或 94°C、1~5 min 快速热启动。
3. 体系适应性强, 具有更高的特异性和灵敏度。
4. 具有 5' -3' 聚合酶, 5' -3' 外切核酸酶活性; 无 3' -5' 外切酶活性, 无校对功能。
5. PCR 产物 3' 端为 A, 产物可直接进行 T 载体克隆。
6. 对于退火温度较低的引物或超过 200 bp 长片段扩增建议采用三步法。