

产品概述

Robustart Taq 是我公司开发的热启动 Taq 酶产品。本产品不但能够更好地抑制在 PCR 体系配制和扩增过程中由于引物的非特异性退火或引物聚体所引起的非特异性反应，使本产品具有优良的特异性，对低浓度模板的扩增更加有效，适用于多重 PCR 扩增反应；而且本产品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/ μ L

试剂组成

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

*10 \times PCR Buffer II (Mg^{2+} free)不含 dNTP 和 Mg^{2+} ，配制反应体系配制时请加入 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 II (Mg^{2+} free) ¹	5 μ L	1 \times
dNTPs (10 mM each dNTP)	1 μ L	200 μ M
25 mM $MgCl_2$	2~8 μ L	1~4 mM
5 U/ μ L Robustart Taq	0.25~0.5 μ L	1.25~2.5 U
25 \times Primer Mix ²	2 μ L	1 \times
Template	—	< 1 μ g/reaction
ddH ₂ O	To 50 μ 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 μ M 可以得到较好结果；反应性能较差时，可以在 0.2~1 μ M 范围内调整引物浓度。通常探针浓度在 0.1~0.3 μ 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. 能够采用 95°C 或 94°C、1~5 min 快速热启动。
2. 体系适应性强，具有更高的特异性和灵敏度。
3. 适合用作高灵敏度 PCR 检测试剂，能够用于多重 PCR 扩增反应。
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. 适用于普通 PCR、RT-PCR 的定性、定量检测。
6. PCR 产物 3' 端为 A，产物可直接进行 T 载体克隆。
7. 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。