Robustart KTaqM3

货号：E23

2023V01

产品概述

Robustart KTaqM3 是我公司开发的热启动 Taq Stoffel fragment 产品，该酶去除了 Taq 酶 5’-3’外切酶活性，无 3’-5’外切酶活性，具有 DNA 聚合酶活性。本产品采用热启动形式，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，适用于多重 PCR 扩增反应。

规格

5 U/μL

试剂组成

1．5 U/μL Robustart KTaqM3

2．10×PCR Buffer II (Mg^{2+} free)（选配）

3．25 mM $MgCl_2$（选配）

*10×PCR Buffer II (Mg^{2+} free)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×PCR Buffer II (Mg^{2+} free)[1]	5 μL	1×
dNTPs（10 mM each dNTP）	1 μL	200 μM
25 mM $MgCl_2$	5~10 μL	2.5~5 mM
5 U/μL Robustart KTaqM3	0.25~0.5 μL	1.25~2.5 U
25×Primer Mix[2]	2 μL	1×
Template	——	< 1 μg/reaction
ddH_2O	To 50 μL	——

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 μM 可以得到较好结果；反应性能较差时，可以在 0.2～1 μM 范围内调整引物浓度。通常探针浓度在 0.1～0.3 μM 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

步骤	温度	时长	循环数
热启动	95°C	1~5 min	1
变性	95°C	10~20 s	35~50
退火	56~64°C	10~30 s	
延伸	72°C	10~60 s	
延伸	72°C	7 min	1

技术说明

1. 能够采用 95°C或 94°C、2~5 min 快速热启动。
2. 具有 5’ -3’ 聚合酶活性，无 5’ -3’ 外切核酸酶活性；无 3’ -5’ 外切酶活性，无校对功能。
3. 适合用于多重 PCR 扩增反应。
4. 具有更高的稳定耐受性，适用于复杂模板的 95~98°C高温变性条件。
5. PCR 产物 3’ 端为 A，产物可直接进行 T 载体克隆。