



BRKlenTaq DNA 聚合酶

产品组分:

组分	BM0332S 500 U	BM0332L 2500 U
BRKlenTaq DNA 聚合酶 (2.5 U/μL)	200 μL	1000 μL
5×BRKlenTaq Buffer	1 mL	1 mL×5

产品概述:

BRKlenTaq DNA 聚合酶 (Blood Resistance KlenTaq) 是一种来源于 Taq DNA 聚合酶的热稳定性聚合酶。该酶经过基因工程改造, 其 N 端缺失了 280 个氨基酸, 包括 5'→3' 外切核酸酶结构域, 分子量约为 62 kDa。与野生型 Taq DNA 聚合酶相比, 这种截短型的 KlenTaq 酶具有更高的保真性和热稳定性。此外, 序列中引入的特定突变, 使其对全血中存在的 PCR 抑制剂具有较强的耐受性, 因此可直接使用人或小鼠的全血进行扩增, 无需提取 DNA。扩增后的 PCR 产物带有 3'-dA 突出端, 可直接用于 TA 克隆实验。

保存条件: -20°C 保存。

用途:

1. 无需繁琐 DNA 提取和纯化步骤, 直接用全血样本进行 PCR 扩增的便捷操作, 广泛应用于遗传病检测、基因分型检测或病原体检测等领域。可耐受 20-30% 的全血。
2. 具有非模板依赖性的聚合酶活性, 能在平末端双链 DNA 的 3' 末端添加一个额外的碱基, 用于加 “A” 或加 “T” 反应。

来源: 由携带 BRKlenTaq DNA 聚合酶基因的大肠杆菌菌株表达并纯化得到。

纯度: SDS-PAGE 电泳检测, 蛋白质条带单一, 纯度达到 95% 以上, 不含 DNase 和 RNase。

活性单位定义: 一个活力单位即在 74°C 条件下, 30 分钟内催化 10 nmol dNTP 的掺入反应成为酸不溶性物质所需的酶量。

酶储存液: 10mM Tris-HCl, 100 mM KCl, 1% Triton X-100, 0.1mM EDTA, 1 mM DTT, 50% 甘油, pH 7.5 @ 25°C。

5×BRKlenTaq Buffer: 300 mM Tricine, 25 mM (NH₄)₂SO₄, 10 mM MgCl₂, 指示染料及其它成分, pH 9.0 @ 25°C。

操作步骤:

1. 在 PCR 管中加入以下组分:

	25 μL	50 μL
5×BRKlenTaq Buffer	5 μL	10 μL
10 mM dNTPs	0.5 μL	1 μL
BRKlenTaq DNA 聚合酶 (2.5 U/μL)	1 μL	2 μL
正向引物 (10 μM)	0.5 μL	1 μL
反向引物 (10 μM)	0.5 μL	1 μL
全血	最高到 2.5μL	最高到 10 μL
无核酸酶水补足至	25 μL	50 μL

注意: 推荐在 25 μl 反应体系中全血体积 ≤10%, 在 50 μl 反应体系中全血体积 ≤20%。

2. 混匀扩增组分后, 最后加入血液, 盖上管盖
3. 将 PCR 管转移至预热至 95°C 的 PCR 仪加热块, 开始循环扩增。
- 4 对于含有 >10% 血液的反应, 建议使用 50 μl 反应体系。
5. PCR 扩增参数

步骤	循环次数	温度	时间
预变性	1	94°C	2 min
变性	30-40 次	94°C	20 s
退火	(通常设置为 35 次)	Ta (50-68°C)	20 s
延伸		72°C	1 kb/min
后延伸	1	72°C	2 min
保温	1	4-10°C	∞

Ta (annealing temperature): 退火温度, 是指在 PCR 的引物退火步骤中使用的温度, 是引物与模板 DNA 特异性结合的关键步骤温度, 它与引物的溶解温度 (T_m 值) 和目标序列的 GC 含量密切相关, 正确的退火温度能够保证引物结合的特异性, 同时避免引物二聚体等非特异性扩增, 这是影响 PCR 成败的重要因素之一。

6. PCR 结束后, 取 5-10 μL PCR 扩增产物进行常规琼脂糖凝胶电泳分析。如果 PCR 产物不易吸取, 可以做离心处理获得上清, 再做电泳分析。

注意事项:

- 1.血液样本建议使用经抗凝剂（如肝素钠、EDTA 钠、EDTA 钾或枸橼酸钠）处理的全血。在 PCR 反应中，虽然可使用高达 30%（体积比）的血液，但推荐使用 5%–10% 的血液浓度。过高的血液浓度会引入大量红细胞和血清蛋白，在 PCR 高温变性过程中易凝固形成沉淀，导致反应后只能回收少量 PCR 产物上清，而且往往需额外离心步骤分离，因此不建议使用高浓度血液样本。
- 2.干血可直接使用，方法是将 1 毫米打孔圆片加入 25 微升 PCR 反应体系中。若血液储存在 FTA 纸，建议先将 1 毫米打孔圆片在 50°C 的 50 微升水中孵育 5 分钟。弃去 50 微升水，直接将圆片用于 25–50 微升的 PCR 反应。对于富含 GC 的靶序列，可加入高达 10% 的 DMSO。
- 3.血液制品为潜在的危险源，请做好个人防护，规范操作，将血液和感染性体液的危险风险减到最低。
- 4.本产品仅供专业研究人员进行科学研究使用，**不可用于**临床诊断、治疗、食品、药品或任何其他非科研用途，且必须按规定存放于专业实验场所。