

**描述:** mTTx DNA/RNA 聚合酶经电子重构架技术, 改变了 TTx 的活性配体中心, 使其在  $Mg^{2+}$  条件下仍然具有极强的逆转录活性。mTTx DNA/RNA Polymerase 在  $Mg^{2+}$  条件下对于 DNA 模板和 RNA 模板扩增能力几乎无偏差, 这种独有的特性使得 mTTx 不再受限于反应 Buffer 系统, 增加了其应用的拓展性, 使得多种类型的实验得以实现, 包括: 采用单酶进行 TaqMan RT-PCR、在单管相同的 Buffer 系统中对 RNA 和 DNA 进行多重检测、超重的 RNA 模板扩增、RNA 的 NGS 建库、高保真 RT-PCR 扩增等。

mTTx DNA/RNA Polymerase 的特性: (1) 依赖于 DNA 模板的聚合酶活性; (2) 极强的依赖于 RNA 模板的逆转录活性; (3) 5'-3'外切酶活性, 用于 TaqMan 探针切割; (4) 金属配体离子为  $Mg^{2+}$ , 通常使用浓度 2-3.5mM; (5) 相比于 TTx DNA 聚合酶, mTTx 的耐热性能有所下降, 92°C 条件下的半衰期为 30min; (6) 热启动版本的 mTTx 在 50°C 条件下 100%无活性, 92°C 加热 5min 后恢复活性; (7) 以 RNA 为模板进行 RT-PCR 扩增的最大长度为 280bp, 扩增效率最高的长度为 70-150bp。

#### 组分

名称	250U	2500U
HotStart mTTx DNA/RNA Polymerase (5 U/μl)	50 μl	500 μl
5xmTTx Buffer( $Mg^{2+}$ free)	1 ml	1 mlx10
100mM $Mg^{2+}$	1 ml	1 mlx2

**储存:** -20°C 可保存 3 年。

**活性定义:** 一个活力单位即在在 68°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。

#### 反应实例

1. 按以下组分配制 RT-qPCR 反应液

HotStart mTTx DNA/RNA Polymerase (5 U/μl)	0.2 μl
5xmTTx Buffer ( $Mg^{2+}$ free)	4 μl
100mM $Mg^{2+}$	0.5 μl
dNTP Mixture (10 mM each)	0.2 μl
上游引物 (10 μM)	0.4 μl
下游引物 (10 μM)	0.4 μl
荧光探针 (10 μM)	0.2 μl
RNA	X μl
ddH <sub>2</sub> O	Up to 20 μl

**注意:**

- (1)  $Mg^{2+}$  通常使用 2.5mM 浓度, 可在 2-3.5mM 调整。
- (2) 引物和探针的使用浓度可在 0.1-0.8ul 直接调整。

2. Direct One-Step RT-qPCR 程序

92°C	5 min	热启动
60°C	5 min	逆转录
92°C	10 s	循环 35-45 次
60°C	30 s (收集信号)	

**注意:** mTTx 的最佳变性温度为 92°C, 其它温度条件都会导致试剂性能下降。逆转录步骤的温度可根据实际情况在 58-72°C 调整。