

Optimus™ Hotstart Taq Mix (NAF)

货号规格

货号	P2041F	P2042F	P2043F	P2044F
规格	1 ml	1 ml×5	100 ml	500 ml

产品简介

Optimus™ Hotstart Taq Mix (NAF)是 2× 浓缩的 PCR 扩增预混合溶液，含有无外源 DNA 残留的 Hotstart Taq DNA 聚合酶、dNTPs、缓冲液等 PCR 扩增必需组分（模板与引物除外）。使用时，仅需在扩增体系中加入模板和引物即可进行 PCR，大大简化操作过程，缩短操作时间，降低污染（加样次数减少）同时，由于体系内含有增强剂，能够显著增强 PCR 扩增的灵敏度。扩增产物具有 3'-dA 突出端，可直接用于 TA 克隆。

本品经特殊工艺处理，无外源 DNA 残留，符合生物制药、细胞治疗、疫苗质量控制等高标准应用需求。

产品组成

Component	P2041F	P2042F	P2043F	P2044F
2× Optimus™ Hotstart Taq Mix (NAF)	1 ml	1 ml × 5	100 ml	500 ml
超纯水	1 ml	1 ml × 5	-	-

保存条件

-20℃ 保存 2 年。

质量控制

纯度检测：经质量检测，产品不含脱氧核糖核酸内切酶、脱氧核糖核酸外切酶和核糖核酸酶污染。

功能检测：PCR 方法检测无宿主残余 DNA，能有效扩增人基因组中的单拷贝基因。

应用举例

1. 配制反应体系

请于冰上或常温配置反应体系，体系大小与组分用量与添加顺序可调整：

Component	Volume (50- μ l rxn)	Final Conc. (50- μ l rxn)
2× Optimus™ Hotstart Taq Mix (NAF) [1]	25 μ l	1X
upstream primer (10 μ M) [2]	2 μ l	0.4 μ M
downstream primer (10 μ M) [2]	2 μ l	0.4 μ M
template DNA [3]	1-4 μ l	<1 μ g
超纯水 [4]	To 50 μ l	-

[1] 根据实验需要调整 Optimus™ Hotstart Taq Mix (NAF)用量，降低终浓度可提高反应特异性，提高终浓度可提高反应效率。

[2] 引物终浓度建议范围：0.1-1 μ M。特异性差时可降低浓度，效率低时可提高浓度。

[3] 不同模板最佳用量不同，部分 DNA 模板建议用量如下表（50 μ l 反应体系）。

Template	人类基因组 DNA	λ DNA	大肠杆菌基因组 DNA	质粒 DNA
Dosage	100ng-1000ng	0.5ng-5ng	10ng-100ng	0.1ng-10ng

[4] 可单独订购超纯水（Cat. #: P9021/P9022/P9023）。

2. 设定反应程序进行 PCR 反应

Stage	Temperature	Time	Number of Cycles
Initial Denaturation	94°C	3 min	1
Denaturation	94°C	30 sec	25-35
Annealing	55-68°C [1]	30 sec	
Extension	72°C	Variable [2]	
Final Extension	72°C	5-10 min	1

[1] 退火温度应根据 T_m 值较低的引物来设。

[2] 延伸时间按 1 min/kb 来设最佳（简单模板可达 20s/kb）。

3. 分析结果

反应产物可直接进行琼脂糖凝胶电泳，通过凝胶成像设备观察目的条带的扩增情况。如有需要，可进行割胶回收。

无产物或产物量少的改进措施有：1 调整退火温度；2 减少抑制剂的影响，如提取的基因组

DNA 中含有抑制扩增的成分，需要高倍稀释（1: 10000）后使用；3 采用乙醇沉降洗脱，提高模板 DNA 的纯度；4 使用 PCR 添加剂，如 PCR Enhancer (#P9041)、MgCl₂ (#P9031) 等可提高产量。

操作注意事项

1 本产品采用改进的抗体修饰技术，依赖温度激活 DNA 聚合酶，能有效抑制非特异性结合，可在室温下配置反应体系。

2 Hotstart Taq DNA 聚合酶具有脱氧核苷酸转移酶活性，因此在 PCR 产物 3'末端通常会加上 1 个多余的脱氧腺嘌呤核苷，可直接用于 TA 克隆。

引物设计注意事项

引物长度一般在 15-30 个碱基之间；上下游引物 3'末端避免互补，避免出现 3 个以上重复的 G 或 C，或出现发夹结构，否则会产生非特异性扩增；GC 含量控制在 40-60%，且上下游引物 GC 含量尽量接近；T_m 值控制在 55-65℃之间，且上下游引物 T_m 值尽量接近，额外附加序列（酶切位点、修饰等）是非模板匹配序列，不参与 T_m 值计算。

本品仅供科学研究使用。