

产品说明书

26 版

基本信息

产品编号:	PS2474
产品名称:	Bst 2.0 DNA polymerase 8u/μL

产品简介:

本产品来源于 *Bacillus stearothermophilus* DNA Polymerase I, 经基因工程改造去除了其 5' -3' 核酸外切酶活性, 但保留了 5' -3' DNA 聚合酶活性和强链置换活性。与野生型 Bst DNA Polymerase 相比, 该酶在扩增速度、产量、耐盐性和热稳定性等方面均有大幅提高, 同时增加了 dUTP 耐受性, 非常适用于防污染的等温扩增反应, 如 LAMP 等。

本产品适用于环介导等温扩增 LAMP、解旋酶等温基因扩增 (HDA) 等 DNA 等温扩增, 多重置换扩增 (MDA), 全基因组扩增 (WGA), 高 GC 含量 DNA 的测序, 纳克级 DNA 模板的快速测序, 建库测序等。

组分:

组分	组分名称	包装规格 (800U)	包装规格 (4KU)	储存
组分 A	Bst 2.0 DNA polymerase (8 U/μL)	100 μL	500 μL	-20℃
组分 B	10×Bst 2.0 DNA polymerase Buffer	0.3mL	1.5mL	-20℃
组分 C	100 mM MgSO ₄	0.2mL	1mL	-20℃

产品信息:

来源:	大肠杆菌重组表达和纯化而获得。
纯度:	无 DNA 内切酶和外切酶活性。
酶活定义:	1 U 指 65℃ 条件下反应 30 min, 能使 10 nmol 的 dNTP 掺入酸不溶性沉淀物所需的酶量。
失活或抑制:	80 °C 加热 20min。

操作步骤:

以 LAMP 等温扩增为例, 参考下表设置反应体系。

一: 按下列顺序配置反应体系

组分	体积
Nuclease-Free Water	y μL
10×Bst 2.0 DNA polymerase Buffer	2.5 μL
100 mM MgSO ₄	1.5 μL
dNTP (10mM each)	3.5 μL
FIP/BIP Primers (25X, 40 μM)	1 μL
F3/B3 Primers (25X, 5 μM)	1 μL
LoopF/B Primers (25X, 10 μM)	1 μL
Template	x μL
Bst 2.0 DNA polymerase (8 U/μL)	4 μL
Total volume	25 μL



注意：

- 1: 在配制反应体系完成后，可每 25 μ L 体系的反应管盖加适量高浓度的 SYBR GreenI 1 μ L，待等温扩增反应结束后，8000g 离心 1min，反应体系变荧光绿为阳性，保持无色或棕色为阴性。也可以无需添加指示剂，待反应程序结束后，可见反应液明显变浑浊为阳性，反应液保持透明为阴性。
- 2: 如需优化反应，可调整 Mg^{2+} 浓度 (4-10mM)，酶量 (0.04-0.32U/ μ L) 或改变反应温度 (50-68 $^{\circ}$ C)。
- 3: 如果通过琼脂糖凝胶电泳或其它需要打开 LAMP 反应容器的方法进行分析，请设置辅助分析区域和设备，以避免污染。
- 4: 由于反应比较迅速，为了确保实验的重现性，建议模板 DNA 最后加入。
- 5: 强烈建议设置未加模板的阴性对照，以确保扩增的特异性。
- 6: 为了防止在配置试剂时发生污染，请务必在超净工作台内进行操作。
- 7: 试剂及模板 DNA 的配置操作尽量需要和 PCR 产物的电泳等分析在不同的区域进行，以免发生污染。

二：反应程序：65 $^{\circ}$ C 60min。

三：灭活：80 $^{\circ}$ C 20min。如实验需要，可以用 1.5% 的琼脂糖凝胶进行电泳分析，电泳图显示扩增产物为梯度条带为阳性，无梯度条带为阴性。

注意事项：

- 1: 建议等温扩增反应温度不能高于 70 $^{\circ}$ C，否则会导致酶失活。
- 3: 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

储存：低温运输，-20 $^{\circ}$ C，24 个月。

