



Bst DNA Polymerase, Large Fragment (powder)

B744267

储存温度 -20°C 储存

产品介绍

本公司生产的 Bst DNA Polymerase, Large Fragment (powder) 即嗜热脂肪芽孢杆菌 (*Bacillus stearothermophilus*, Bst) DNA Polymerase I 大片段, 具有 5'→3' DNA 聚合酶活性, 不具有 3'→5'和 5'→3'的核酸外切酶活性。Bst DNA Polymerase, Large Fragment 具有很强的链置换(strand displacement)能力, 可应用于核酸的等温扩增反应, 如环介导的等温扩增 (Loop-mediated isothermal amplification, LAMP) 和滚环扩增 (Rolling-circle amplification, RCA)等。Bst DNA Polymerase, Large Fragment 介导的等温扩增温度一般在 50-68°C之间, 通常为 65°C。与 Bst DNA Polymerase 2.0 相比, 本产品在进行等温扩增时不具有将 dUTP 掺入合成的 DNA 链的能力。Bst DNA Polymerase 具有 5'→3'的核酸外切酶活性, 而 Bst DNA Polymerase, Large Fragment 通过删除突变而缺失了 5'→3'核酸外切酶活性。

组分和说明

B744267	Component	4KU	Storage
B744267A	Bst DNA Polymerase, Large Fragment (powder)	4KU	-20°C. Avoid freeze/thaw cycle.
B744267B	10X Bst Reaction Buffer	1.5ml	-20°C. Avoid freeze/thaw cycle.
B744267C	100mM MgSO ₄	1ml	-20°C. Avoid freeze/thaw cycle.

使用说明

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。

产品优势

酶活性好, 在进行等温扩增时不具有将 dUTP 掺入合成的 DNA 链的能力。强大的链置换能力、高灵敏度和高特异性、高保真性和热稳定性。

使用说明

1. 以 LAMP 等温扩增为例，参考下表设置反应体系。

Reagent	Volume	Final concentration
Nuclease-Free Water	(13.5-x) μ l	-
10X Bst Reaction Buffer	2.5 μ l	1X
MgSO ₄ (100mM)	1.5 μ l	6mM (8mM total)
dNTP (10mM each)	3.5 μ l	1.4mM each
FIP/BIP Primers (25X, 40 μ M)	1 μ l	1.6 μ M
F3/B3 Primers (25X, 5 μ M)	1 μ l	0.2 μ M
LoopF/B Primers (25X, 10 μ M)	1 μ l	0.4 μ M
Template	x μ l	>10 copies or more
Bst DNA Polymerase, Large Fragment (8U/ μ l)	1 μ l	320U/ml
Total volume	25 μ l	-

注 1: 在配制反应体系完成后，可每 25 μ l 体系的反应管管盖加适量高浓度的 SYBR Green I 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。

注 2: 如需优化反应，可调整 Mg²⁺浓度(4-10mM)，酶量(0.04-0.32U/ μ l)或改变反应温度(50-68 $^{\circ}$ C)。

注 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。

注 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。

注 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。

注 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。

注 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。

3.反应程序: 65 $^{\circ}$ C 60min。

4.灭活: 80 $^{\circ}$ C 20min。

5.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) 本产品为冻干粉，使用前需要先溶解，请使用推荐的溶解储存液进行溶解，溶解后的酶需要分装后保存于-20℃，避免反复冻融。
- (2) Bst DNA Polymerase, Large Fragment 不具有 3'→5'核酸外切酶活性。
- (3) 建议等温扩增反应温度不能高于 70℃，否则会导致酶失活。
- (4) Bst DNA Polymerase, Large Fragment 不能用于热循环测序和 PCR。
- (5) 每次等温扩增实验注意设置无模板 DNA 作为阴性对照。
- (6) 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- (7) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。