

Bst DNA Polymerase 2.0 使用说明书

(产品货号: EM113)

描述: 该酶来源于 *Bacillus stearothermophilus* DNA Polymerase I, 通过基因工程手段去除了其 5'-3' 外切酶活性, 而保留了 5'-3' 聚合酶活性。该酶具有很强的链置换能力, 因此是 Isothermal amplification (LAMP, RT-LAMP) 的绝佳用酶。与野生型 Bst DNA 聚合酶(大片段)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, 该酶可以使用 dUTP 作为底物进行扩增(Bst 大片段无此活性)。

产品组分与规格

货号	组分	浓度	800 U	1,600 U
EM113	Bst DNA Polymerase 2.0	8 U/ μ l	1 管 \times 100 μ l	1 管 \times 200 μ l
	10 \times Isothermo Buffer	--	1 管 \times 1 ml	2 管 \times 1 ml
	Mg ²⁺	100 mM	1 管 \times 1 ml	2 管 \times 1 ml

酶活定义

一个活力单位即在 65 $^{\circ}$ 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。

应用

- 适用于要求嗜温链置换的实验和 DNA 等温扩增实验, 如 LAMP (Loop-mediated isothermal amplification) ;
- 富含 GC 序列的 DNA 序列测定;
- 微量 DNA 模板的快速测序等。

储存

-20 \pm 5 $^{\circ}$ C, 可保存 3 年。

使用方法

1. 按以下组分配制反应体系:

组分	每管加样量
10×Isothermo Buffer	2.5μl
Mg ²⁺ (100 mM)	1.5 μl
dNTP (10 mM each)	3.5μl
10× Primers	2.5μl
Bst DNA Polymerase 2.0(8 U/μl)	0.25~1μl
DNA 模板	10ng~1μg
ddH ₂ O	Up to 25μl

注: Mg²⁺、引物、酶等各组分的最适加入量根据实际优化的最佳量添加。

10× Primers: 16μM FIP/BIP、2μM F3/B3、4μM LoopF/B each。

2. 按以下条件在仪器上进行反应条件设置

温度	时间
65°C	30-60min

3. 热失活

温度	时间
80°C	5min

4. 使用注意事项:

- 4.1 建议使用无模板 DNA 作为对照检测扩增的特异性。
- 4.2 如果需要优化, 请尝试调整 Mg²⁺ (最终为 4~10 mM)。
- 4.3 10×Isothermo Buffer 中没有 Mg²⁺, 通常 6-8mM Mg²⁺条件下可获得较好的 LAMP 结果。
- 4.4 有文献报道加入 Tte Uvr_d 解旋酶可改善 LAMP 的效果。



欢迎扫码关注