

Bst DNA Polymerase (Large Fragment)使用说明书

(产品货号: EM101)

描述: Bst DNA Polymerase (Large Fragment)是 Bacillus stearothermophilus DNA 聚合酶截取的一部分。该酶保留了 5'→3' DNA 聚合酶活性,无 5'→3' 核酸外切酶活性,具有很强的链置换活性。纯度>99%,无核酸酶污染。

产品组分与规格

货号	组 分	800U	8000U
EM101	Bst DNA Polymerase (Large Fragment, 8 U/μL)	100 μL	1 mL
	10×Buffer 1.0	1mL	1 mL×3
	MgSO ₄ (100 mM)	1mL	1 mL×2

储存液及反应液

储存液: 20 mM Tris-HCl, 100 mM KCl, 0.1mM EDTA, 1 mM DTT, 0.1% Tween 20, 50%甘油, pH 7.5 @ 25°C。

反应液 (10×Buffer 1.0): 200 mM Tris-HCl, 100 mM (NH₄)₂SO₄, 100mM KCl, 20 mM MgSO₄, 1% Triton X-100, pH 8.8 @ 25°C。

酶活定义

一个酶活单位 (U) 定义为: 在 65°C 条件下, 30 分钟内使 10 nmol 的 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 (纳克量) DNA 模板的快速测序等。

储存

-20±5°C, 可保存 1 年。

使用方法

1. 按以下组分配制反应体系:

组分	每管加样量/μl
10×Buffer 1.0	2.5
MgSO ₄ (100 mM)	1.5
dNTP (10 mM each)	3.5
FIP/BIP 引物(25×)	10μmol/L
F3/B3 引物(25×)	10μmol/L
LoopF/B 引物(25×)	10μmol/L
Bst DNA Polymerase (Large Fragment) (8 U/μl)	1
DNA 样本	>10 个拷贝或更多
ddH ₂ O	补至 25

注：MgSO₄、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。

2. 按以下条件在 PCR 仪上进行逆转录反应条件设置

温度	时间
65℃	30-60 分钟

3. 使用准则

3.1 可以使用所有 4 或 6 个（带有 Loop）引物制备 LAMP 引物混合物。一个 25×引物混合物应该包含：40μM FIP，40μM BIP，5μM F3，5μM B3，10μM LoopF，10μM LoopB 溶解于 TE 中。

3.2 反应应在冰上进行。

3.3 如果通过琼脂糖凝胶电泳或其他需要打开 LAMP 反应容器的方法进行分析，请设置辅助分析区和设备，以避免污染。

3.4 建议运行无模板对照，以确保扩增特异性。

3.5 如果需要优化，请尝试调整 Mg²⁺（最终为 4~10 mM）或 Bst DNA Polymerase(Large Fragment)（0.04-0.4 U/μl），或改变反应温度（50-68℃）。

4. 热失活

温度	时间
80℃	20 分钟

5. 使用注意事项：建议反应温度不要超过 70℃。Bst DNA Polymerase (Large Fragment) 不适用于热循环测序或 PCR。



欢迎扫码关注