

Bst DNA polymerase

目录号：AE0605

使用前请仔细阅读说明书

(Full Length)

产品说明

Bst DNA polymerase 是来自于嗜热细菌 *Bacillus stearothermophilus* 的 DNA 聚合酶全长蛋白，具有 5'→3' DNA 聚合酶活性，5'→3' 核酸外切酶活性共两种活性，但缺失 3'→5' 核酸外切酶活性。该酶具有极强的 5'→3' 核酸外切酶活性，不适合链置换，适合于双链 DNA 的缺口平移反应，特别，适合高温下的缺口平移反应。而 Taq DNA 聚合酶的 5'→3' 核酸外切酶活性很弱，不适合缺口平移反应。另外也可用于高温下的引物延伸反应（类似 Taq DNA 聚合酶）。

本公司全长 Bst DNA polymerase 是重组表达，并经多步纯化的重组酶。

活性定义

1 单位指在温度为 65°C，1× AM Buffer E 缓冲体系的反应条件下，30min 内将 10 nmol dNTP 掺入酸不溶性物质所需的酶量。

活性测定条件

AM Buffer E，65°C 温育。

浓度：5U/μl

保存条件：-20°C 保存

特点与应用

- 具有很强的 5'→3' 核酸外切酶活性，不适合链置换；
- 3'→5' 核酸外切酶活性缺失；
- 热失活 85°C×5min
- 高温下富含 GC 的 DNA 扩增的缺口平移反应
- 高温下引物的延伸反应

产品包装规格及组成

Component	AE0605A	AE0605B
Bst DNA polymerase (Full Length)	500U	2.5kU
10× AM Buffer E	0.5ml	1.5ml
10× AM Buffer H	0.5ml	1.5ml

质量控制

相关测试表明无外源内切、外切脱氧核糖核酸酶、RNase 污染。PCR 方法检测无宿主残余 DNA。

酶贮存缓冲液

10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 0.1% Triton® X-100, 50% Glycerol, pH 7.1 @ 25°C。

注意事项

- Bst DNA 聚合酶具有很强的 5'→3' 核酸外切酶活性，适合缺口平移反应，不适合 LAMP 链置换反应。
- 建议反应温度不要超过 70°C，不能用于热循环测序或 PCR。
- Mg²⁺ 的使用浓度为 4~10 mM 浓度，通常在 6-8 mM Mg²⁺ 条件下可获得较好的缺口平移、引物延伸效果。
- 使用无模板 DNA 作为对照检测扩增的特异性，防止假阳性扩增结果。
- 长期保存需要添加 0.1mg/ml BSA 或 0.1% Triton X-100。
- 不同等温扩增的反应条件有所差异，昂酶等温扩增 Buffer（AM Buffer H）可提高扩增效果。

使用实例：

1. 切口平移

1) 按下表配制反应体系

反应组分	ul
10× Buffer	4
dNTP (0.1mM dATP,dGTP,dTTP)	4
*[γ - 32P]dCTP (3000 Ci/mmol)	10
! 底物: 模板 DNA	50ng-1 μ g
<i>Bst</i> DNA polymerase (5U/ μ l)	1
! DNase I (0.0004 U/ μ l)	1
H ₂ O	Variable
总体积	40

2) 50-65℃ × 30min 反应，

3) 90℃ × 15min 保温，失活酶

4) 取适量作为杂交反应的探针使用（若有必要，可通过凝胶过滤或乙醇沉淀除去未掺入的 dCTP）按需进行后续实验。

*也可以用其它标记的（例如 cy3 荧光标记的 dCTP）的单一 dNTP 作为标记底物。

! 用来在模板 DNA 中间形成缺口，作为聚合酶切口平移的反应位点。若模板 DNA 本身已经带有切口或缺口，则不用添加 DNase I。

2. LAMP 等温扩增

1) 按下表配制反应体系

组份	体积/ μ l	终浓度
10×AM Buffer E	2.5	1×
引物 FIP (10 μ M)	2	0.8 μ M (0.8p/ul)
引物 RIP (10 μ M)	2	0.8 μ M
引物 F3 (10 μ M)	0.5	0.2 μ M
引物 R3 (10 μ M)	0.5	0.2 μ M
引物 loop-F (10 μ M)	0.75	0.3 μ M
引物 loop-R (10 μ M)	0.75	0.3 μ M
dNTPs (2.0 mM)	5	0.4 mM
Template (10ng/ul) *	1	0.1-10ng
ddH ₂ O	variable	/
总体积	50	/

2) 95 度加热 5min，放冰上 5min

3) 加入 1ul *Bst* DNA polymerase 大片段 (8U/ul)，65℃ 保温 30min；

4) 跑胶检测 DNA 扩增结果

按需进行后续实验。

警告：本产品仅限科研实验使用，临床应用安全性和有效性未鉴定，不可用于医疗临床诊断。