

Bst DNA polymerase

目录号: **AE0605**

使用前请仔细阅读说明书

(Large Fragment)

产品说明

Bst DNA polymerase (Large Fragment) 又称 Bst DNA 聚合酶大片段，是来自于嗜热细菌 *Bacillus stearothermophilus* DNA 聚合酶的蛋白酶水解大片段，具有 5'→3' DNA 聚合酶活性，但缺失 5'→3' 核酸外切酶活性。

本公司 Bst DNA polymerase Large Fragment 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 BufferE，65°C 温育。

浓度: 8U/μl

保存条件: -20°C 保存

特点

- 5'→3' 核酸外切酶活性缺失
- 极强的链置换合成能力
- 热失活 85°C×5min

适用范围

- DNA 等温扩增
- 富含 GC 的 DNA 扩增
- 纳克级 DNA 模板的快速扩增
- 可用于高温链置换 DNA 合成

产品包装规格及组成

Component	AE0605A	AE0605B
Bst DNA polymerase (Large Fragment)	800U	4kU
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

- 建议反应温度不要超过 70°C。Bst DNA 聚合酶大片段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 LAMP 结果。
- 有文献报道加入 Tte UvrD 或 Tth UvrD 解旋酶可改善 LAMP 的效果，本公司有售 Tte UvrD (AE1401) 和 Tth UvrD (AE1402)。
- 使用无模板 DNA 作为对照检测扩增的特异性。
- 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。

应用实例

1. LAMP 等温扩增——电泳法检测

1) 按下表配制反应体系

组份	体积/ μ l	终浓度
10 \times AM Buffer H	2.5	1 \times
引物 FIP (10 μ M)	4	1.6 μ M
引物 RIP (10 μ M)	4	1.6 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)	1	0.4 μ M
引物 loop-R (10 μ M)	1	0.4 μ M
dNTPs (10.0 mM)	3	1.2 mM
100mM MgSO ₄	1.5	6 mM
Template (10ng/ μ l) *	1	0.1-10ng
ddH ₂ O	variable	/
总体积	25	/

2) 加入 1ul Bst DNA polymerase 大片段 (8U/ μ l), 65 $^{\circ}$ C 保温 30-60min;

3) 跑胶检测 DNA 扩增结果

按需进行后续实验。

2. LAMP 等温扩增——荧光法实时检测

1) 按下表配制反应体系

组份	体积/ μ l	终浓度
10 \times AM Buffer H	2.5	1 \times
引物 FIP (10 μ M) †	4	1.6 μ M
引物 RIP (10 μ M)	4	1.6 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)	1	0.3 μ M
引物 loop-R (10 μ M)	1	0.3 μ M
dNTPs (10.0 mM)	3	0.4 mM
100mM MgSO ₄	1.5	6 mM
SYBR Green (10 \times)	5	1 \times
Template (10ng/ μ l) *	1	0.1-10ng
ddH ₂ O	variable	/
总体积	25	/

2) 加入 1ul Bst DNA polymerase 大片段 (8U/ μ l), 在 qPCR 仪于 65 $^{\circ}$ C 保温 30-60min;

3) 荧光检测 DNA 扩增结果

注意事项:

三对引物的浓度为参考值, 可以根据具体的扩增反应进行优化。

dNTP 终浓度可以根据不同实验需要, 在 0.4mM-1.6mM 之间进行优化。

在加入 Bst DNA polymerase 之前, 可以 95 度加热 5min, 放冰上 5min, 有助于改善扩增效果。

本公司具有可视变色法、电泳法、荧光法 LAMP 试剂盒, 使用时仅需加入引物和模板。

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。