

## 产品概述

Bst DNA Polymerase 来源于 *Bacillus stearothermophilus* DNA Polymerase I, 通过基因工程技术保留了 5'→3' DNA 聚合酶活性, 去除了 5'→3' 外切酶活性, 具有链置换能力, 可用于 DNA 链置换反应和 LAMP (Loop-mediated isothermal amplification) 扩增等。Bst 2.0 DNA 聚合酶经基因改造, 使其具有更高的灵敏度, 和野生型 Bst DNA 聚合酶、Bst 大片段相比, 该酶可有效提高扩增速度、产量等。

## 规格

8 U/μL

## 试剂组成

1. 8 U/μL Bst 2.0
2. 10×LAMP Basic Buffer (Mg<sup>2+</sup> free) (选配)
3. 250 mM MgSO<sub>4</sub> (选配)

\*10×LAMP Basic Buffer (Mg<sup>2+</sup> free) 不含 dNTP 和 Mg<sup>2+</sup>, 配制反应体系时请加入 dNTPs 和 MgSO<sub>4</sub> 使用。

## 活性定义

一个活力单位即在 65°C 条件下, 30 min 内催化 10 nmol dNTP 的掺入反应成为酸不溶性物质所需要的酶量。

## 热失活

85°C 5 min 或 95°C 2 min。

## 保存条件

-20°C 长期保存, 使用前应混匀, 避免反复冻融。

## 适用范围

1. DNA 链置换反应。
2. LAMP 等温扩增。
3. 富含 GC 模板和纳克级模板的 DNA 测序。

## PCR 反应体系配制

以 LAMP 等温扩增为例, 请在冰上保持低温下配制:

Component	Volume per Reaction	Concentration in Master Mix
10×LAMP Basic Buffer (Mg <sup>2+</sup> free) <sup>1</sup>	5 μL	1×
dNTPs (25 mM each dNTP)	2.8~3.2 μL	1.4~1.6 mM
250 mM MgSO <sub>4</sub>	1.2~1.6 μL	6~8 mM
8 U/μL Bst 2.0	2 μL	16 U
10×Primer Mix <sup>2</sup>	5 μL	1×
50×Eva Green <sup>3</sup>	1 μL	1×
Template DNA <sup>4</sup>	—	—
ddH <sub>2</sub> O	To 50 μL	—

1. 该 Buffer 不含 dNTP 和  $Mg^{2+}$ , 必须补充加入 dNTPs 和  $MgSO_4$  使用。
2. 10×Primer Mix: 16  $\mu$ M FIP, 16  $\mu$ M BIP, 2  $\mu$ M F3, 2  $\mu$ M B3, 4  $\mu$ M LoopF and 4  $\mu$ M LoopB in TE Buffer.
3. 50×Eva Green 可用其他染料替代, 不同染料的用量需要根据实验调整。
4. 为了获得较佳扩增效果, 添加适当的模板, 如质粒 10 fg~1 ng、基因组 10 ng~100 ng、适量的 DNA 提取液处理的模板。

## 反应条件

60~65°C, 30~60 min (每 min 收集荧光)。

## 常见问题及解答

LAMP 扩增产物少或没有扩增:

1. 增加模板量, 增加酶量。
2. 更换引物, 建议多设计几组引物, 通过预实验筛选最佳引物。引物的设计请参考 <http://primerexplorer.jp/e/>。
3. 尽量使用环引物, 可以提高扩增效率、缩短扩增时间。