

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 HS 是在经基因改造的 Bst 2.0 DNA 聚合酶的基础上、采用可逆性修饰技术获得的热启动恒温扩增酶, 能够在室温下完全封闭酶的活性, 因此可在室温下建立反应, 防止非特异性扩增, 提高反应效率。另外, Bst2.0 HS 不需要单独的激活步骤。

规格

8 U/μL

试剂组成

1. 8 U/μL Bst 2.0 HS
2. 10×LAMP Basic Buffer (Mg²⁺ free) (选配)
3. 250 mM MgSO₄ (选配)

*10×LAMP Basic Buffer (Mg²⁺ free) 不含 dNTP 和 Mg²⁺, 配制反应体系时请加入 dNTPs 和 MgSO₄ 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 ²⁺ free) ¹	5 μL	1×
dNTPs (25 mM each dNTP)	2.8~3.2 μL	1.4~1.6 mM
250 mM MgSO ₄	1.2~1.6 μL	6~8 mM
8 U/μL Bst 2.0 HS	2 μL	16 U

10×Primer Mix ²	5 μL	1×
50×Eva Green ³	1 μL	1×
Template DNA ⁴	---	---
ddH ₂ O	To 50 μL	---

1. 该 Buffer 不含 dNTP 和 Mg²⁺, 必须补充加入 dNTPs 和 MgSO₄ 使用。
2. 10×Primer Mix: 16 μM FIP, 16 μM BIP, 2 μM F3, 2 μM B3, 4 μM LoopF and 4 μM 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。