



Bst 2.0 DNA/RNA polymerase

产品信息:

组成	AT111-01	AT111-02
Bst 2.0 DNA/RNA polymerase (8 U/ μ L)	1600 U	1600 U $\times$ 5
10 $\times$ Bst Buffer	1 ml	1 ml $\times$ 5

储存条件: -20 $^{\circ}$ C保存

产品简介:

Bst2.0 DNA/RNA 聚合酶是嗜热脂肪芽孢杆菌 (*Bacillus stearothermophilus*) DNA 聚合酶 I 大片段 (Bst LF) 经过基因突变改造过的聚合酶。该酶具有 5'-3' 的 DNA 聚合酶活性和链置换活性, 无 5'-3' 核酸外切酶活性。与野生型 Bst LF DNA 聚合酶相比, Bst 2.0 DNA/RNA 聚合酶的热稳定性、扩增速度、链置换速度和耐盐, 耐 dUTP 等性能都有很大的提升。Bst2.0 DNA/RNA 聚合酶还具有逆转录活性。非常适合 LAMP 类型的等温扩增实验。

活性单位: 一个活力单位 (1 U) 即在 65 $^{\circ}$ C 条件下, 30 分钟内催化 25 nmol dNTP 的掺入反应成为酸不溶性物质所需的酶量。

质量控制: SDS-PAGE 检测纯度大于 99%, 经检测无核酸外切酶, 内切酶活性, 无细菌基因组 DNA 残留。通过各种模板进行等温扩增测试。室温存放一周, 无明显活性改变。

应用范围:

1. DNA 或 RNA 为模板的 LAMP 等温扩增。
2. 适用于链置换方法扩增 DNA。
3. 高 GC 结构 DNA 的测序和微量 DNA 模板快速测序。

10 $\times$ Bst Buffer: 200 mM Tris-HCl, 100 mM (NH₄)₂SO₄, 500 mM KCl, 80mM MgSO₄, 1% Tween $^{\circ}$ 20

pH 8.8 @ 25 $^{\circ}$ C。

储存缓冲液: 10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50% Glycerol, 0.1% Triton $^{\circ}$ X-100, pH 7.5 @ 25 $^{\circ}$ C。

使用方法:

1. 按以下组分配制 LAMP 等温扩增反应液, 建立反应体系。

组分	体积	终浓度
10 $\times$ Bst Buffer	2.5 μ L	1 $\times$ (含 8mM 的 MgSO ₄)
10mM dNTPs	3.5 μ L	1.4 mM
Primer Mix(10 $\times$)*	2.5 μ L	1 $\times$ (1.6 μ M FIP/BIP, 0.4 μ M LF/LB, 0.2 μ M F3/B3 each)
Bst 2.0 DNA/RNA polymerase (8U/ μ L)	1 μ L	0.32U/ μ L
模板 DNA 或 RNA	1ng-0.5 μ g	
补加 ddH ₂ O	至 25 μ L	

2. 混匀, 离心数秒, 置于控温设备中 65 $^{\circ}$ C 反应 30-60min。
3. 反应结束后 85 $^{\circ}$ C, 5min 失活聚合酶。电泳检测或肉眼观察并记录结果。

注意:

1. Primer Mix(10 $\times$)配制方法, 用灭菌水将引物全部溶解至浓度为 100 μ M 的储存液。取一干净离心管, 先加 56 μ L 灭菌水, 然后取 FIP 和 BIP 引物各 16 μ L, LF 和 LB 各 4 μ L, F3/B3 各 2 μ L, 混匀即可。
2. 反应体系中可以添加 dUTP 和热敏 UDG 酶。经测试占比 50% 的 dUTP (0.7mM) 完全不影响 Bst 酶活性。热敏 UDG 酶用量可按供应商的推荐用量和方法添加。
3. 可使用带热盖加热的 PCR 仪以及金属加热块或恒温水浴作为控温设备。无热盖加热装置, 需要在反应管中添加一滴石蜡油, 防止反应液蒸发。
4. 可以在反应体系中添加适当浓度的 SYTO $^{\circ}$ -9、EvaGreen $^{\circ}$ 、SYBR $^{\circ}$ Green I 等荧光染料分子, 用于实时荧光等温扩增。
5. 为防止扩增产物污染造成假阳性结果, 最好在其它房间对阳性样本进行 2% 以上浓度的琼脂糖凝胶电泳检测。

实验例:

图 1: 以 pCambia1305 质粒为模板, LAMP 方法检测质粒上的 CaM35S 和 NOS DNA 序列。

图 2: 以人胚肾 239 细胞 RNA 模板, RT-LAMP 方法检测 beta-actin 基因在细胞中的表达。

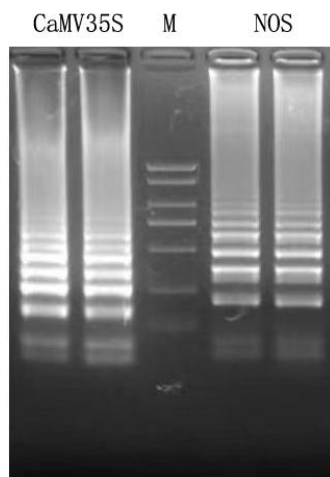


图 1

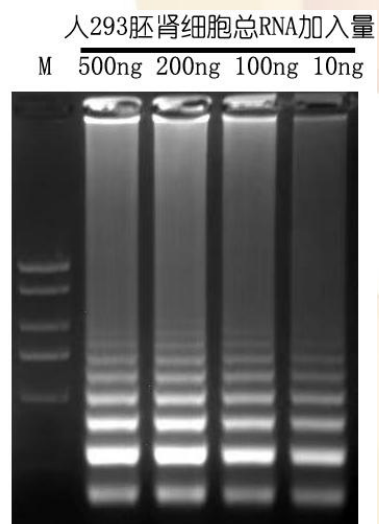


图 2

BM20220602