

## *Bst* DNA Polymerase, Large Fragment (powder)

产品编号	产品名称	包装
D7049M	<i>Bst</i> DNA Polymerase, Large Fragment (powder)	4000U

### 产品简介:

- 碧云天生产的*Bst* DNA Polymerase, Large Fragment, 即嗜热脂肪芽孢杆菌(*Bacillus stearothermophilus*, *Bst*) DNA Polymerase I大片段, 具有5'→3' DNA聚合酶活性, 不具有3'→5'和5'→3'的核酸外切酶活性。*Bst* DNA Polymerase, Large Fragment具有很强的链置换(strand displacement)能力, 可应用于核酸的等温扩增反应, 如环介导的等温扩增(Loop-mediated isothermal amplification, LAMP)和滚环扩增(Rolling-circle amplification, RCA)等。
- *Bst* DNA Polymerase, Large Fragment介导的等温扩增温度一般在50-68°C之间, 通常为65°C。与*Bst* DNA Polymerase 2.0相比, 本产品在进行等温扩增时不具有将dUTP掺入合成的DNA链的能力。
- *Bst* DNA Polymerase具有5'→3'的核酸外切酶活性, 而*Bst* DNA Polymerase, Large Fragment通过删除突变而缺失了5'→3'核酸外切酶活性。
- 活性定义: One unit is defined as the amount of enzyme that will incorporate 10nmol of dNTP into acid insoluble material in 30 minutes at 65°C。
- 碧云天生产的*Bst* DNA Polymerase, Large Fragment酶活性参考图1。

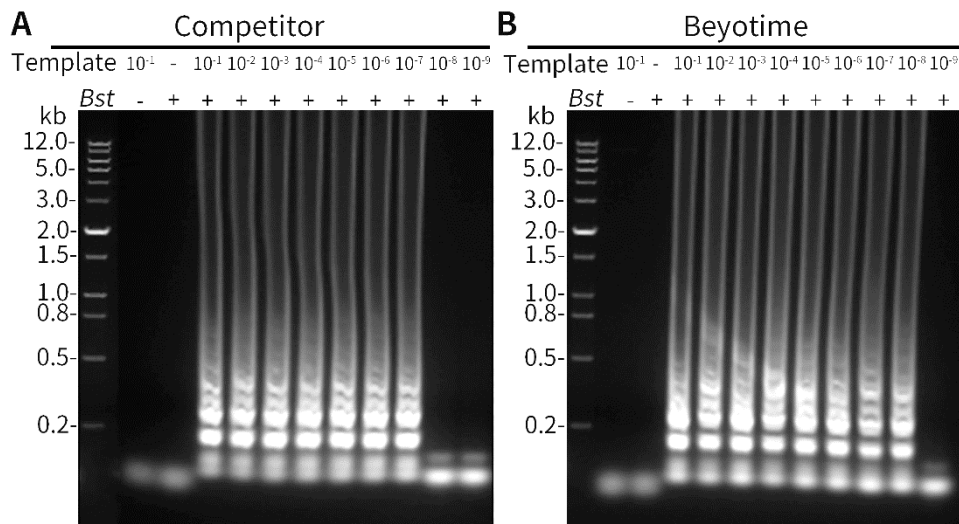


图1. 碧云天*Bst* DNA Polymerase, Large Fragment进行环介导等温扩增反应的效果。使用本产品或N公司的*Bst* DNA Polymerase, Large Fragment, 在25 $\mu$ l体系, 分别以不同量的(10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-6</sup>, 10<sup>-7</sup>, 10<sup>-8</sup>, 10<sup>-9</sup> ng)烟草花叶病毒的CaMV35启动子为模板, 8U的*Bst* DNA Polymerase, Large Fragment (图1中简称为*Bst*), 引物: 1.6 $\mu$ M FIP/BIP、0.2 $\mu$ M F3/B3、0.4 $\mu$ M LoopF/B、1.4mM dNTP each, 在1X *Bst* Reaction Buffer中补加MgSO<sub>4</sub>至终浓度为8mM, 65°C孵育1h, 80°C加热20min灭活, 然后进行1.5%的琼脂糖凝胶电泳检测。如图所示, 本产品与Competitor N公司的产品相比, 具有略好或至少相当的酶活性效果。M, DNA marker (D0110 DNA Ladder (0.2-12 kb, 12 bands))。

- 来源: *Bacillus stearothermophilus* DNA Polymerase I的大片段通过大肠杆菌重组表达和纯化而获得。
- 纯度: 无DNA内切酶和外切酶活性。
- 用途: 环介导等温扩增LAMP、解旋酶等温基因扩增(HDA)等DNA等温扩增, 多重置换扩增(MDA), 全基因组扩增(WGA), 高GC含量DNA的测序, 纳克级DNA模板的快速测序, 建库测序等。
- 本产品为冻干粉, 使用前需要溶解。推荐使用溶解储存液: 10mM Tris-HCl (pH7.5), 50mM KCl, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 0.1% Triton X-100, 50% (v/v) glycerol。
- 10X *Bst* Reaction Buffer: 200mM Tris-HCl, 100mM KCl, 100mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 20mM MgSO<sub>4</sub>, 1% Triton X-100, pH 8.8 at 25°C。
- 失活或抑制: 80°C加热20min。

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
------	------	----

D7049M-1	<i>Bst</i> DNA Polymerase, Large Fragment (powder)	4000U
D7049M-2	10X <i>Bst</i> Reaction Buffer	1.5ml
D7049M-3	100mM MgSO <sub>4</sub>	1ml
—	说明书	1份

### 保存条件：

-20°C保存,至少一年有效。

### 注意事项：

- 本产品为冻干粉，使用前需要先溶解，请使用推荐的溶解储存液进行溶解，溶解后的酶需要分装后保存于-20°C，避免反复冻融。
- *Bst* DNA Polymerase, Large Fragment不具有3'→5'核酸外切酶活性。
- 建议等温扩增反应温度不能高于70°C，否则会导致酶失活。
- *Bst* DNA Polymerase, Large Fragment不能用于热循环测序和PCR。
- 每次等温扩增实验注意设置无模板DNA作为阴性对照。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明：

#### 1. 引物设计：

环介导的等温扩增引物的设计可以参考<http://primerexplorer.jp/e/>，建议使用V5版本。具体操作手册可以在[http://primerexplorer.jp/e/v5\\_manual/index.html](http://primerexplorer.jp/e/v5_manual/index.html)下载。环介导等温扩增引物的初步筛选可参照该操作手册，具体需要通过实验来验证比较合适的引物。LAMP引物由4个或6个(含Loop)引物组成，建议加入Loop环引物设计，即设计6条引物进行实验。

#### 2. 以LAMP等温扩增为例，参考下表设置反应体系。

Reagent	Volume	Final concentration
Nuclease-Free Water	(13.5-x)μl	-
10X <i>Bst</i> Reaction Buffer	2.5μl	1X
MgSO <sub>4</sub> (100mM)	1.5μl	6mM (8mM total)
dNTP (10mM each)	3.5μl	1.4mM each
FIP/BIP Primers (25X, 40μM)	1μl	1.6μM
F3/B3 Primers (25X, 5μM)	1μl	0.2μM
LoopF/B Primers (25X, 10μM)	1μl	0.4μM
Template	xμl	> 10 copies or more
<i>Bst</i> DNA Polymerase, Large Fragment (8U/μl)	1μl	320U/ml
Total volume	25μl	-

注1：在配制反应体系完成后，可每25μl体系的反应管管盖加适量高浓度的SYBR Green I 1μl，待等温扩增反应结束后，8000g离心1min，反应体系变荧光绿为阳性，保持无色或棕色为阴性。也可以无需添加指示剂，待反应程序结束后，可见反应液明显变浑浊为阳性，反应液保持透明为阴性。

注2：如需优化反应，可调整Mg<sup>2+</sup>浓度(4-10mM)，酶量(0.04-0.32U/μl)或改变反应温度(50-68°C)。

注3：如果通过琼脂糖凝胶电泳或其它需要打开LAMP反应容器的方法进行分析，请设置辅助分析区域和设备，以避免污染。

注4：由于反应比较迅速，为了确保实验的重现性，建议模板DNA最后加入。

注5：强烈建议设置未加模板的阴性对照，以确保扩增的特异性。

注6：为了防止在配置试剂时发生污染，请务必在超净工作台内进行操作。

注7：试剂及模板DNA的配置操作尽量需要和PCR产物的电泳等分析在不同的区域进行，以免发生污染。

3. 反应程序：65°C 60min。

4. 灭活：80°C 20min。

5. 如实验需要，可以用1.5%的琼脂糖凝胶进行电泳分析，电泳图显示扩增产物为梯度条带为阳性，无梯度条带为阴性。

### 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D7050S	<i>Bst</i> DNA Polymerase, Large Fragment	800U
D7050M	<i>Bst</i> DNA Polymerase, Large Fragment	4000U
D7049M	<i>Bst</i> DNA Polymerase, Large Fragment (powder)	4000U
D7053S	phi29 DNA Polymerase	250U
D7053M	phi29 DNA Polymerase	1kU

D7053L	phi29 DNA Polymerase	5kU
D7053XL	phi29 DNA Polymerase	20kU
D7055S	<i>Bsu</i> DNA Polymerase, Large Fragment	200U
D7055M	<i>Bsu</i> DNA Polymerase, Large Fragment	1000U
D7359-250µl	dUTP (100mM)	250µl
D7359-1ml	dUTP (100mM)	1ml
D7360S	Uracil-DNA Glycosylase (E. coli)	1000U
D7360M	Uracil-DNA Glycosylase (E. coli)	5000U
D7362S	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile,	100U
D7362M	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile,	500U
D7364S	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod)	200U
D7364M	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod)	1000U
D7364L	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod)	5000U
D7371	dNTP Mixture (2.5mM each)	1ml
D7373	dNTP Mixture (25mM each)	250µl
D7376-1ml	dNTP/dUTP Mixture (2.5mM each/5mM)	1ml
D7376-5ml	dNTP/dUTP Mixture (2.5mM each/5mM)	5ml

Version 2023.08.14