

# Bst DNA Polymerase Large Fragment

P701

Version 21.1



## 产品概述

Bst DNA Polymerase Large Fragment是*Bacillus stearothermophilus* DNA聚合酶的一部分，具有5'→3' DNA聚合酶活性，以及很强的链置换活性，但缺失5'→3'核酸外切酶活性。Bst DNA Polymerase Large Fragment可用于等温扩增反应，如LAMP (Loop-mediated isothermal amplification)，RCA (Rolling-circle amplification)等。

## 产品组分

组 分	P701-01 800 U	P701-02 8,000 U
Bst DNA Polymerase Large Fragment <sup>a</sup> (8 U/μl)	100 μl	1 ml
10 × ThermoPol Buffer <sup>b</sup>	1 ml	3 × 1 ml
MgSO <sub>4</sub> (100 mM)	1 ml	2 × 1 ml

a. 贮存于10 mM Tris-HCl pH 7.5, 50 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 0.1% Triton X-100, 50% 甘油。

b. 200 mM Tris-HCl pH 8.8, 100 mM KCl, 100 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 20 mM MgSO<sub>4</sub>, 1% Triton X-100。

## 保存条件

-30 ~ -15°C保存，≤0°C运输。

## 适用范围

本产品适用于LAMP，HDA，RCA等多种等温扩增反应。

## 来源

Bst DNA Polymerase Large Fragment来源于*Bacillus stearothermophilus*。

## 单位定义

65°C、30 min内使10 nmol的dNTP掺入酸不溶性沉淀物所需要的酶量，定义为1个活性单位(U)。

## 自备材料

试剂：dNTP Mix, FIP/BIP Primers, F3/B3 Primers, LoopF/LoopB Primers, Nuclease-free Water。

仪器：PCR仪或水浴锅。

## 注意事项

1. 本产品不可用于PCR反应。
2. 本产品使用温度不超过70°C。

## 实验流程

### 以LAMP等温扩增为例：

1. 将10 × ThermoPol Buffer取出，冰上解冻，使用前涡旋10 sec混匀，并短暂离心收集。
2. 除模板DNA外，其余组分按下表顺序配制反应混合液。

组分	体积	终浓度
10 × ThermoPol Buffer	2.5 μl	1 ×
MgSO <sub>4</sub> (100 mM)	1.5 μl	6 mM(total 8 mM)
dNTP Mix(10 mM)	3.5 μl	1.4 mM
FIP/BIP Primers	4 μl	1.6 μM
F3/B3 Primers	0.5 μl	0.2 μM
LoopF/LoopB Primers	2 μl	0.8 μM
Bst DNA Polymerase Large Fragment	1 μl	320 U/ml
模板DNA	x μl	>10 copies or more
Nuclease-free Water	up to 25 μl	

▲ 为了防止在配制试剂时发生污染，请务必在超净工作台内进行操作。

▲ 试剂及模板DNA的配制操作最好在不同的区域进行，以免发生污染。

3. 用移液器吹打混匀，并短暂离心收集。

▲ 请勿振荡，剧烈的振荡混合会使酶失活。

▲ 确保反应体系中没有气泡。

4. 加入相应体积的模板DNA，使总体积为25 μl。

▲ 由于反应比较迅速，为了保证重复良好的结果，建议模板DNA最后加入。

5. 用移液器吹打混匀，并短暂离心收集。

6. 60 ~ 65°C恒温孵育1 h。

7. 如果实验需要，可以在2%的琼脂糖凝胶上进行电泳分析。

## 常见问题及解决方案

### ◇ 环介导的等温扩增引物如何设计及筛选？

环介导的等温扩增引物的设计请参考<http://primerexplorer.jp/e/>，建议使用V4版本。

具体操作手册登录[http://primerexplorer.jp/e/v4\\_manual/index.html](http://primerexplorer.jp/e/v4_manual/index.html)下载。环介导等温扩增引物的初步筛选可参照操作手册，具体需要通过实验来验证最佳引物。

### ◇ 环介导等温扩增产物可以做酶切鉴定吗？

可以。但是开盖容易造成气溶胶污染，一定要谨慎操作。

### ◇ 加环引物出现假阳性，不加就正常，是什么原因？

若环引物经验证没有污染，则可能是环引物导致了非特异的扩增，这种情况下建议不使用环引物或者更换别的环引物。

\*所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。