

## Bst DNA Polymerase, Exonuclease Minus

### 货号规格

货号	P1111	P1112	P1113	P1114
规格	1,000U	2,000U	8,000U	40,000U

浓度: 40 U/μL

### 产品简介

Bst DNA Polymerase, Exonuclease Minus 来源于嗜热脂肪芽孢杆菌 DNA 聚合酶 I。该酶具有 5'-3'聚合酶活性、链置换活性及 dUTP 耐受性，但去除了 5'-3'核酸外切酶活性。本产品适用于防污染的 DNA 等温扩增反应，如 LAMP (环介导等温扩增)、SDA (交叉引物恒温扩增) 及其它等温扩增技术。

### 产品组成

Component	P1111	P1112	P1113	P1114
Bst DNA Polymerase, Exonuclease Minus	25 μl	50 μl	200 μl	1 ml
10X DNA Polymerase Buffer B	125 μl	250 μl	1 ml	1 ml × 3
MgSO <sub>4</sub> (100 mM)	125 μl	250 μl	1 ml	1 ml × 3

### 保存条件

-20℃保存 2 年。

### 活性定义

1U 指在 65℃条件下，30 分钟内使 10 nmol dNTP 掺入酸性不溶物所需要的酶量。

**Bst DNA 聚合酶储存液成分:** 10 mM Tris-HCl, pH 7.5, 50 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 0.1% Triton X-100, 50% 甘油。

**1X Buffer B 成分:** 20 mM Tris-HCl pH 8.8, 10 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 50 mM KCl, 2 mM MgSO<sub>4</sub>, 0.1 % Tween-20。

### 产品应用

LAMP、CPA、RCA 等等温扩增反应。

**失活条件:** 85℃, 5 min

### 应用举例 — DNA LAMP

#### 1. 配制反应体系

Component	25-μl rxn	Final Conc.
10X DNA Polymerase Buffer B <sup>[1]</sup>	2.5 μl	1X
MgSO <sub>4</sub> (100 mM) <sup>[2]</sup>	0.75 μl	3 mM (total 5 mM)
dNTPs Mix (10 mM) <sup>[3]</sup>	3.5 μl	1.4 mM each
[可选] dUTP (10 mM) <sup>[3]</sup>	3.5 μl	1.4 mM each
[可选] UDGase (1 U/μl) <sup>[3]</sup>	1 μl	0.04 U/μl
10X Primers <sup>[4]</sup>	2.5 μl	-
Bst DNA Polymerase, Exonuclease Minus	1 μl	1.6 U/μl
DNA sample	10ng~1μg	10 copies or more
Nuclease-free Water	to 25 μl	-

注: [1] 1X Buffer B 包含 2 mM MgSO<sub>4</sub>。

[2] Mg<sup>2+</sup> 建议浓度: 4~10 mM。

[3] 可单独订购产品, dNTPs 货号 P9013, dUTP 货号 P9111, 热敏 UDG 酶货号 R5001/R5002。

[4] 10X Primers 包含 16 μM FIP/BIP, 2 μM F3/B3, 4 μM Loop F/B。

#### 2. 反应条件

Temperature	Time
25~37℃ (可选, 降解含 U 模板)	5~10 min
65℃	30~60 min
85℃	5 min

### 工作流程

为了尽量减少交叉污染, 步骤 6 之后的操作应该在与准备反应混合物的区域分开的区域进

行。

1. 解冻所有组分，并保持在冰上。
2. 所有组分在使用前应充分混合。将所有离心管旋转 10 秒，然后短暂离心收集。
3. 按上表所列的顺序配制反应混合物。添加除样本外的所有组分。在此步骤中，反应混合管应始终保持在冰上，以防止酶的本底活性。
4. 所有试剂加入后，将反应完全混合。轻柔地漩涡。这一步需要确保所有反应组分的均匀分布。
5. 将反应混合物(25 $\mu$ L 减去样本体积)分配到PCR 管或96 孔PCR 板的孔中进行每个反应。
6. 在每孔/管中加入样本，每孔的总体积为 25 $\mu$ L。
7. 运行无模板对照(阴性对照)以确保扩增特异性。
8. 盖管或密封反应板。在孵育前短暂离心收集。
9. 在所需温度下将反应孵育 30- 60 分钟。强烈建议在(55-65 $^{\circ}$ C)范围内运行温度梯度以确定最佳温度。
10. 如果需要，在 2% 琼脂糖凝胶上运行样品。
11. 如果需要优化，尝试调整  $Mg^{2+}$  或 Bst DNA 聚合酶浓度。

注:反应产物可在-20 $^{\circ}$ C 保存较长时间。

本品仅供科学研究使用。