

## Bst DNA Polymerase, Exonuclease Minus

### 货号规格

货号	P1111	P1112	P1113
规格	200U	2,000U	10,000U

浓度: 8,000 U/mL

### 产品简介

Bst DNA Polymerase, Exonuclease Minus 是 67 kDa 嗜热脂肪芽孢杆菌 DNA 聚合酶蛋白 (大片段) 的重组形式。该酶具有 5'-3'聚合酶活性和链置换活性, 但缺乏 3'-5'核酸外切酶活性。它还具有逆转录活性。本产品适用于 DNA 等温扩增、富含 GC 区域的 DNA 测序、纳克级含量 DNA 模板的快速测序以及可用于要求嗜温链置换的实验, 如 LAMP (环介导等温扩增)、SDA (链置换扩增)、NEAR (切口酶等温扩增) 及其它等温扩增技术。

### 产品组成

Component	P1111	P1112	P1113
Bst DNA Polymerase, Exonuclease Minus	25 µl	250 µl	250 µl × 5
10X DNA Polymerase Buffer B	120 µl	1.2 ml	1.2 ml × 5

### 保存条件

-20°C 保存 1 年。

### 活性定义

1U 指在 65°C 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 Bst Buffer 成分:** 20 mM Tris-HCl pH 8.8, 10 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 10 mM KCl, 2 mM MgSO<sub>4</sub>, 0.1 % Triton X-100。

### 产品应用

1. 通过高 GC 区进行 DNA 测序
2. 基于纳克 DNA 模板的快速测序

**失活条件:** 80°C, 20 min

### 应用举例 — DNA LAMP

#### 配制反应体系:

Component	25-µl rxn	Final Conc.
10X DNA Polymerase Buffer B*	2.5 µl	1X
100 mM MgSO <sub>4</sub>	1.5 µl	6 mM (total 8 mM)
10 mM dNTPs mix	3.5 µl	1.4 mM each
Target specific primers, 20X	1.25 µl	1X
F3 and B3 Primers	X µl	200 nM each
Loop F and B Primers	X µl	800 nM each
FIP and BIP Primers	X µl	1600 nM each
Bst DNA Polymerase, Exonuclease Minus	1 µl	8 U/rxn
DNA sample	variable	10 copies or more
Nuclease-free Water	to 25 µl	-

\*1X Buffer B 包含 2 mM MgSO<sub>4</sub>

### 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- 40 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, 尝试滴定  $Mg^{2+}$  (4-10 mM 终浓度)或 Bst DNA 聚合酶(0.04-0.32 U/ $\mu$ L)。

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。