# Bst DNA Polymerase

货号：E101

2023V01

BiOri 宝锐生物

## 产品概述

Bst DNA Polymerase 来源于 *Bacillus stearothermophilus* DNA Polymerase I，通过基因工程技术保留了 5'→3' DNA 聚合酶活性，去除了 5'→3'外切酶活性，具有链置换能力，可用于 DNA 链置换反应和 LAMP（Loop-mediated isothermal amplification）扩增等。

## 规格'

8 U/μL

## 试剂组成

1．8 U/μL Bst DNA Polymerase

2．10×LAMP Basic Buffer ($Mg^{2+}$ free)（选配）

3．250 mM $MgSO_4$（选配）

*10×LAMP Basic Buffer ($Mg^{2+}$ free)不含 dNTP 和 $Mg^{2+}$，配制反应体系时请加入 dNTPs 和 $MgSO_4$ 使用。

## 活性定义

一个活力单位即在 65°C条件下，30 min 内催化 10 nmol dNTP 的掺入反应成为酸不溶性物质所需要的酶量。

## 热失活

85°C 5 min 或 95°C 2 min。

## 保存条件

-20°C长期保存，使用前应混匀，避免反复冻融。

## 适用范围

1. DNA 链置换反应。
2. LAMP 等温扩增。
3. 富含 GC 模板和纳克级模板的 DNA 测序。

## PCR 反应体系配制

**以 LAMP 等温扩增为例，请在冰上保持低温下配制：**

| Component | Volume per Reaction | Concentration in Master Mix |
|---|---|---|
| 10×LAMP Basic Buffer ($Mg^{2+}$ free) [1] | 5 μL | 1× |
| dNTPs（25 mM each dNTP） | 2.8~3.2 μL | 1.4~1.6 mM |
| 250 mM $MgSO_4$ | 1.2~1.6 μL | 6~8 mM |
| 8 U/μL Bst DNA Polymerase | 2 μL | 16 U |
| 10×Primer Mix [2] | 5 μL | 1× |
| 50×Eva Green [3] | 1 μL | 1× |
| Template DNA [4] | —— | —— |
| $ddH_2O$ | To 50 μL | —— |

1. 该 Buffer 不含 dNTP 和 $Mg^{2+}$，必须补充加入 dNTPs 和 $MgSO_4$ 使用。
2. 10×Primer Mix: 16 μM FIP, 16 μM BIP, 2 μM F3, 2 μM B3, 4 μM LoopF and 4 μM LoopB in TE Buffer.
3. 50×Eva Green 可用其他染料替代，不同染料的用量需要根据实验调整。
4. 为了获得较佳扩增效果，添加适当的模板，如质粒 10 fg~1 ng、基因组 10 ng~100 ng、适量的 DNA 提取液处理的模板。

## 反应条件

60~65°C， 30~60 min（每 min 收集荧光）。

## 常见问题及解答

LAMP 扩增产物少或没有扩增：

1. 增加模板量，增加酶量。
2. 更换引物，建议多设计几组引物，通过预实验筛选最佳引物。引物的设计请参考 http://primerexplorer.jp/e/。
3. 尽量使用环引物，可以提高扩增效率、缩短扩增时间。