

# Bst 2.0 DNA Polymerase

**M112**

## 产品简介

Bst 2.0 DNA Polymerase 来源于 *Bacillus stearothermophilus* DNA Polymerase I 基因改造，并通过工程菌重组表达获得，含有 5'→3'DNA 聚合酶活性和强链置换活性，缺失 5'→3'核酸外切酶活性。与野生型 Bst DNA 聚合酶大片段相比，Bst 2.0 DNA Polymerase 具有更高的扩增速度、产量、耐盐性和热稳定性。同时，该酶可以使用 dUTP 作为底物进行扩增 (Bst 大片段无此活性)。

## 产品特点

扩增速度更高；产量更高；具备耐盐性；热稳定性好

## 产品组成

组 分	M112 (1,000 U)	M112 (10,000 U)
10 × Bst 2.0 Buffer	250 µl	2 × 1.25 ml
Bst 2.0 DNA Polymerase (8 U/µl)	125 µl	1.25 ml

## 产品应用

等温扩增 LAMP；链置换 DNA 合成相关实验；高 GC 模板 DNA 测序；微量 DNA 模板快速测序

## 单位定义

一个单位定义为在 65°C 下 30 min 内将 25 nmol 的 dNTP 掺入酸不溶性物质中的酶量。

## 反应条件

1 × Bst 2.0 Buffer 中，65°C 反应。反应温度可在 60-70°C 之间调整，但不要超过 70°C。80°C 20 min 可失活。

## 质量控制

核酸外切酶残留检测：20 U 本品和 0.6 µg λ-Hind III 在 74°C 下孵育 1 h，DNA 的电泳谱带不发生变化。

核酸内切酶残留检测：20 µl 反应体系，10 U 本品和 1 µg λDNA，37°C 温育 4 h，DNA 的电泳谱带无变化。

RNase 残留检测：20 U 本品和 1 µg Hela 细胞总 RNA 在 37°C 下孵育 30 min，RNA 的电泳谱带不发生变化。

大肠杆菌残留 DNA 残留检测：50 µl 体系中，以 ddH<sub>2</sub>O 为模板，扩增 *E. coli* 16s rDNA 基因。30 个循环后进行 1% 琼脂糖凝胶电泳，染色，无扩增条带。

## 储存条件

-20°C保存, 于-20 ~ 0°C运输。▲避免反复冻融。

## 实验方案

### 1. PCR 管中配制引物混合液 Primer Mix

组分	用量
Primer FIP (100 μM)	16 μl
Primer BIP (100 μM)	16 μl
Primer F3 (100 μM)	2 μl
Primer B3 (100 μM)	2 μl
Primer LOOP F (100 μM)	4 μl
Primer LOOP R (100 μM)	4 μl
ddH <sub>2</sub> O	to 100 μl

### 2. 反应管中配置如下混合液

组分	用量
Bst 2.0 DNA Polymerase (8 U/μl)	2 μl
10 × Bst 2.0 Buffer	5 μl
dNTP (10 mM)	7 μl
MgSO <sub>4</sub> (200 mM)	2 μl
Primer Mix <sup>a</sup>	5 μl
Template DNA <sup>b</sup>	X μl
ddH <sub>2</sub> O	to 50 μl

反应体系中各成分的量可根据以下原则自行调整:

- 一般来说该反应体系中各引物终浓度为 1.6 μM FIP/BIP primers, 0.4 μM LF/LB primers, 0.2 μM F3/B3 primers。
- 该反应体系灵敏度极高, 建立反应体系时加入模板量的准确程度对最终定量结果会有很大的影响。推荐将模板稀释后加入反应体系中, 这样可以有效提高实验的重复性。如模板类型为未稀释 RNA 原液, 使用体积不应超过反应总体积的 1/10。

3. LAMP 反应: 60-65°C, 20-30 min

## 常见问题与解决方案

### 反应结束无扩增

反应时间不够: 一般设置 30 min 左右, 但需要注意的是扩增时间过长会增多背景信号, 降低反应可信度。

确认引物是否降解: 长时间未用的引物应先通过 PAGE 电泳检测完整性, 以排除其降解的可能。

模板浓度太低: 减少稀释度重复实验, 一般未知浓度的样品先从最高浓度做起。

模板降解: 重新制备模板, 重复实验。