

Bst II DNA Polymerase

使用前请仔细阅读说明书

目录号: LP301

版本号: Version 2.0

保存: -20°C保存两年。

酶浓度: 8 units/μl

产品说明

本产品包含 *Bst* II DNA 聚合酶、5×LAMP Reaction Mix、荧光染料 TS LAMP Green。适用于以 DNA 为模板的 LAMP 反应，扩增能力强、特异性高，在荧光定量法（染料法、探针法）LAMP 反应中具有极佳的反应性能。

Bst II DNA Polymerase 为重组 *Bacillus stearothermophilus* DNA 聚合酶，在大肠杆菌中表达后经纯化分离而得到。该酶具有 5'→3' DNA 聚合酶活性，缺失 5'→3' 外切核酸酶活性。

5×LAMP Reaction Mix 为优化的预混反应液，已包含反应所需的 MgSO₄、dNTPs 等组分，无需另外加入。

TS LAMP Green 为荧光定量扩增的 DNA 结合染料，和 SYBR Green I 光谱范围相似，与各知名品牌 qPCR 仪兼容，使用 TS LAMP Green 替代 SYBR Green I，毋需改变任何您目前使用的操作步骤和仪器设备。

特点

- 等温扩增 (Loop-mediated Isothermal Amplification, LAMP) 能力
- 快速聚合
- 强链置换能力

适用范围

- 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
- 可用于要求嗜温链置换的实验。

产品组成信息

产品组成	LP301-01-V2 (100 rxns)	LP301-02-V2 (200 rxns)
<i>Bst</i> II DNA Polymerase	200 μl	400 μl
5×LAMP Reaction Mix	0.6 ml	1.2 ml
TS LAMP Green (20×)	100 μl	200 μl
6×DNA Loading Buffer	500 μl	1 ml
Nuclease-free Water	2×1 ml	4×1 ml

酶活定义

一单位 (U) *Bst* II DNA Polymerase 即在 65°C 条件下，30 分钟内催化 10 nmol 脱氧核苷酸掺入反应成为酸不溶性物质所需的酶量。

推荐荧光染料法 LAMP 体系 (以 25 μl 反应体系为例)

反应组分	体积	工作浓度
DNA Template	Variable	≥10 copies
FIP/BIP Primers	Variable	1.6 μM
B3/F3 Primers	Variable	0.4 μM
Loop F/B Primers	Variable	0.8 μM
5×LAMP Reaction Mix	5 μl	1×
TS LAMP Green (20×)	0.45 μl	0.36×
<i>Bst</i> II DNA Polymerase	2 μl	640 units/ml
Nuclease-free Water	Variable	-
Total Volume	25 μl	-



推荐荧光探针法 LAMP 体系 (以 25 μ l DARQ-LAMP 反应体系为例)

反应组分	体积	工作浓度
DNA Template	Variable	≥ 10 copies
QPD (Quencher Probe Duplex)-FIP	Variable	QPD-FIP比例为2%，即0.032 μ M
FIP Primer	Variable	
BIP Primer	Variable	1.6 μ M
B3/F3 Primers	Variable	0.4 μ M
Loop F/B Primers	Variable	0.8 μ M
5 \times LAMP Reaction Mix	5 μ l	1 \times
<i>Bst</i> II DNA Polymerase	2 μ l	640 units/ml
Nuclease-free Water	Variable	-
Total Volume	25 μ l	-

推荐 LAMP 反应条件

60 $^{\circ}$ C~65 $^{\circ}$ C反应 30~45 分钟，1 分钟收集一次荧光信号，具体反应温度根据引物 T_m 值确定。建议在反应结束后设置 85 $^{\circ}$ C 孵育 20 分钟，使 *Bst* II 酶失活。

操作建议 & 注意事项

- ① *Bst* II DNA 聚合酶不具有 5' \rightarrow 3' 外切酶活性；
- ② *Bst* II DNA 聚合酶不能用于热循环测序或 PCR；
- ③ *Bst* II DNA 聚合酶反应温度范围：50 $^{\circ}$ C~70 $^{\circ}$ C，最适反应温度 63 $^{\circ}$ C；
- ④ TS LAMP Green 染料用量可适当调整，但浓度过高会导致 Ct 值延迟；
- ⑤ 稀释引物请使用 Nuclease-free Water 或 0.1 \times TE Buffer，反应体系中缓冲液浓度较高，使用 1 \times TE 稀释的引物可能会影响扩增；
- ⑥ 由于 *Bst* II DNA 聚合酶在室温下也具有活性，配制体系过程中请保持低温(冰上操作)；
- ⑦ 配制完 LAMP 反应体系后，最好加入一滴石蜡油进行液封，可有效避免气溶胶污染导致的假阳性；
- ⑧ 尽量区分实验环境，在不同的区域进行反应试剂及模板的配制，若反应结束后需要通过琼脂糖凝胶电泳或其它需要打开 LAMP 反应容器的分析方法，请在单独的操作环境中进行，以避免污染；
- ⑨ DARQ (Detection of Amplification by Release of Quenching)-LAMP 反应原理及探针设计方法可参考 Nathan A. Tanner, Yinhua Zhang, and Thomas C. Evans, Jr., Simultaneous Multiple Target Detection in Real-time Loop-mediated Isothermal Amplification. *BioTechniques* (2012)。利用本产品进行 DARQ-LAMP 扩增时，探针内引物 QPD-FIP 的最适添加比例为内引物总量 (1.6 μ M) 的 2%，即 0.032 μ M。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V2.0-202204

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

