

Bst II DNA Polymerase (Large Fragment)

REF: EG23101-S/M

储运条件

-20°C

产品组成

组分	规格 S	规格 M
Bst II DNA Polymerase (Large Fragment) (8 U/μl)	200 μl	1 ml
10× Bst II Reaction Buffer	1 ml	3×1 ml
MgSO ₄ (100 mM)	1 ml	3×1 ml

产品简介

Bst II DNA Polymerase (Large Fragment) 截短去除了 *Bacillus stearothermophilus* DNA 聚合酶的 5'→3' 核酸外切酶结构域，经定向进化改造，在大肠杆菌中重组表达获得。本品具有很强的 5'→3' DNA 聚合酶活性和链置换活性，最适反应温度为 65°C，适用于多种等温扩增反应，如环介导等温扩增 (Loop-Mediated Isothermal Amplification, LAMP)、滚环扩增 (Rolling Circle Amplification, RCA)、解旋酶依赖性扩增 (Helicase-Dependent Amplification, HDA) 等。相比野生型，Bst II DNA Polymerase (Large Fragment) 具有更快的扩增速率、更强的 dUTP 耐受性和耐盐性、以及更好的稳定性。

活性定义

1 个活性单位 (U) 定义为 65°C 下，30 min 内催化 10 nmol dNTP 掺入酸不溶物所需的酶量。

热失活条件

85°C 温育 5 min。

质量控制

蛋白纯度检测

使用 SDS-PAGE 凝胶电泳检测，蛋白纯度不低于 95%。

核酸内切酶活性检测

将 40 U Bst II DNA Polymerase 与 200 ng 超螺旋质粒 DNA 在 37°C 下，共同温育 4 h 后，使用琼脂糖凝胶电泳检测，少于 10% 的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

非特异性核酸酶活性检测

将 40 U Bst II DNA Polymerase 与 15 ng 双链 DNA 片段在 37°C 温育 16 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测双链 DNA 底物无变化。

RNase 活性检测

将 40 U Bst II DNA Polymerase 与 500 ng 总 RNA 在 37°C 温育 1 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测超过 90% 的 RNA 仍保持完整。

宿主 DNA 残留检测

使用大肠杆菌 16S rDNA 特异性引物探针组，采用荧光定量 PCR 法检测 40 U Bst II DNA Polymerase，大肠杆菌宿主基因组 DNA 残留低于 10 copies。

使用方法

以 LAMP 反应为例

1. 使用在线工具 <http://primerexplorer.jp/lampv5e/index.html> 设计引物。
2. 按下表在冰上配制反应混合液，试剂和模板配制最好在不同区域进行，最后加入模板：

试剂	使用量	终浓度
10× Bst II Reaction Buffer	2.5 µl	1×
MgSO ₄ (100 mM)	1.5 µl	6 mM (8 mM total) ^a
dNTP Mix (10 mM each) (推荐 EG20907)	3.5 µl	1.4 mM each
dUTP (10 mM) (可选) ^b	1.5 µl	0.6 mM
HL-Uracil DNA Glycosylase (1 U/µl) (可选) ^b	1 µl	0.04 U/µl
FIP/BIP Primers (20 µM) ^c	2 µl each	1.6 µM each
F3/B3 Primers (20 µM) ^c	0.25 µl each	0.2 µM each
LoopF/LoopB Primers (20 µM) (可选) ^c	1 µl each	0.8 µM each
Bst II DNA Polymerase (Large Fragment) (8 U/µl) ^d	1 µl	0.32 U/µl
DNA 模板	1~5 µl	>10 copies/rxn
ddH ₂ O	To 25 µl	

- a. 1× Bst II Reaction Buffer 中已包括 2 mM MgSO₄，根据实验需求，Mg²⁺ 终浓度可在 4~10 mM 之间调整；
 - b. LAMP 反应非常灵敏，极易受到残留扩增产物气溶胶污染，可使用热敏感 HL-Uracil DNA Glycosylase 配合 dUTP 来消除相关污染（前提是前次扩增也使用 dUTP）；
 - c. 引物加入量较少，可预先配成引物预混液；
 - d. 根据实验需求，Bst II DNA Polymerase (Large Fragment) 终浓度可以在 0.08~0.32 U/µl 之间调整。
- * 本公司 dNTP mix (REF: EG20907)、dUTP (REF: EG20905) 和 HL-Uracil DNA Glycosylase (REF: EG22906) 可以与本品配套使用。

3. 轻微振荡或短暂涡旋混匀，瞬时离心收集至管底。

4. 按如下程序进行反应：

步骤	温度	时间
消除残留污染 (可选)	25°C	5~10 min
LAMP 扩增	60~65°C	30~60 min
热失活	85°C	5 min

5. 使用琼脂糖凝胶电泳或荧光染料检测产物。