碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订货热线: 400-1683301 或 800-8283301
订货 e-mail: order@beyotime.com
技术咨询: info@beyotime.com
网址: http://www.beyotime.com

碧云天网站 微信公众号

Bst 6.0 DNA Polymerase

产品编号	产品名称	包装
D7046S	*Bst* 6.0 DNA Polymerase	8kU
D7046M	*Bst* 6.0 DNA Polymerase	40kU

产品简介:

- 碧云天研发生产的*Bst* 6.0 DNA Polymerase，是一种*Bst* DNA Polymerase, large fragment (D7050)的同源蛋白，即嗜热脂肪芽孢杆菌(*Bacillus stearothermophilus, Bst*) DNA聚合酶大片段的同源蛋白，和*Bst* DNA Polymerase大片段相比，具有更强的5′→3′DNA聚合酶活性、更强的链置换(Strand displacement)能力、dUTP耐受性、耐盐性以及非离子去垢剂耐受性。*Bst* 6.0 DNA Polymerase不具有5′→3′和3′→5的核酸外切酶活性，可应用于环介导的等温扩增(Loop-mediated isothermal amplification, LAMP)、交叉引物扩增技术(Crossing priming amplification, CPA)、滚环扩增(Rolling-circle amplification, RCA)和基于滚环扩增的等温扩增反应等。*Bst* 6.0 DNA Polymerase介导的等温扩增温度一般在50-68°C之间，通常为65°C，最佳温度与所使用的引物和扩增的产物有关，需要通过实验进行优化。
- **活性定义：**One unit is defined as the amount of enzyme that will incorporate 10nmol of dNTP into acid insoluble material in 30 minutes at 65°C。
- 碧云天生产的*Bst* 6.0 DNA Polymerase酶活性效果参考图1。

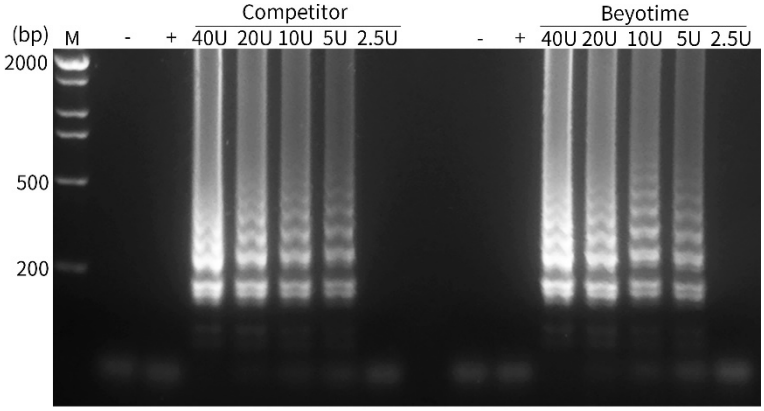

图1. 碧云天*Bst* 6.0 DNA Polymerase (D7046)进行环介导等温扩增反应的效果图。在25μl体系，以相同量(0.1ng)的pCMV-Cre-EGFP (D2608)为模板，使用不同量的碧云天的本产品或N公司(Competitor)的*Bst* 2.0 DNA polymerase，引物：1.6μM FIP/BIP，0.2μM F3/B3，0.4μM Loop F/B，1.4mM dNTP each，在1X *Bst* 6.0 Reaction Buffer (2mM $MgSO_4$)中补加$MgSO_4$至终浓度为8mM，65°C孵育1小时，80°C加热20分钟灭活，然后进行2.0%的琼脂糖凝胶电泳检测。如图所示，本产品与Competitor N公司的产品相比，具有相当的酶活性效果。-，仅未添加酶的阴性对照；+，仅未添加模板的阴性对照；M，DNA marker (DNA Ladder (0.2-12 kb, 12 bands) (D0110))。实际操作时不同实验条件获得的实验结果会略有差异，图中所示结果仅供参考。

- 碧云天生产的*Bst* 6.0 DNA Polymerase进行环介导等温扩增反应可耐受高浓度的dUTP参考图2。

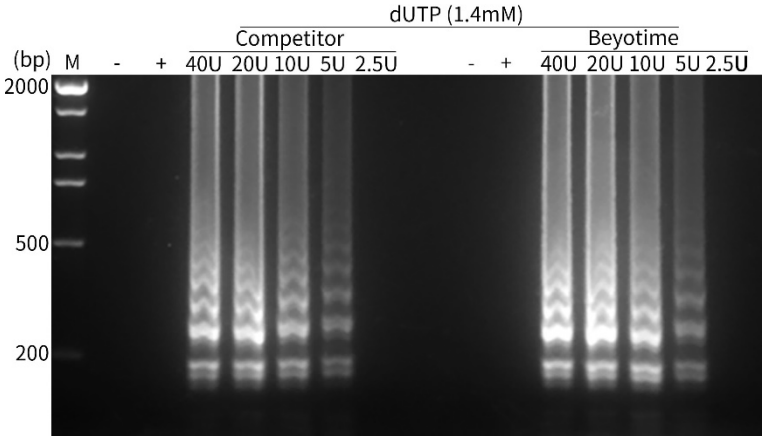

图2. 碧云天*Bst* 6.0 DNA Polymerase (D7046)进行环介导等温扩增反应的高dUTP耐受性的效果图。在25μl体系, 以相同量(0.1ng)的pCMV-Cre-EGFP (D2608)为模板，使用不同量的本产品或N公司(Competitor)的*Bst 2*.0 DNA Polymerase，引物：1.6μM FIP/BIP，0.2μM F3/B3，0.4μM Loop F/B，1.4mM dNTP each，1.4mM dUTP，0.04U UDGase（D7360S/D7360M），在1X *Bst* 6.0 Reaction Buffer (2mM $MgSO_4$)中补加$MgSO_4$至终浓度为8mM，65°C孵育1小时，80°C加热20分钟灭活，然后进行2.0%的琼脂糖凝胶电泳检测。如图所示，本产品与Competitor N公司的产品相比，具有类似的高dUTP耐受性。-，仅未添加酶的阴性对照；+，仅未添加模板的阴性对照; M, DNA marker (DNA Ladder (0.2-12 kb, 12 bands) (D0110))。实际操作时不同实验条件获得的实验结果会略有差异，图中所示结果仅供参考。

- 碧云天生产的*Bst* 6.0 DNA Polymerase进行环介导等温扩增反应可耐受高浓度的非离子去垢剂参考图3。

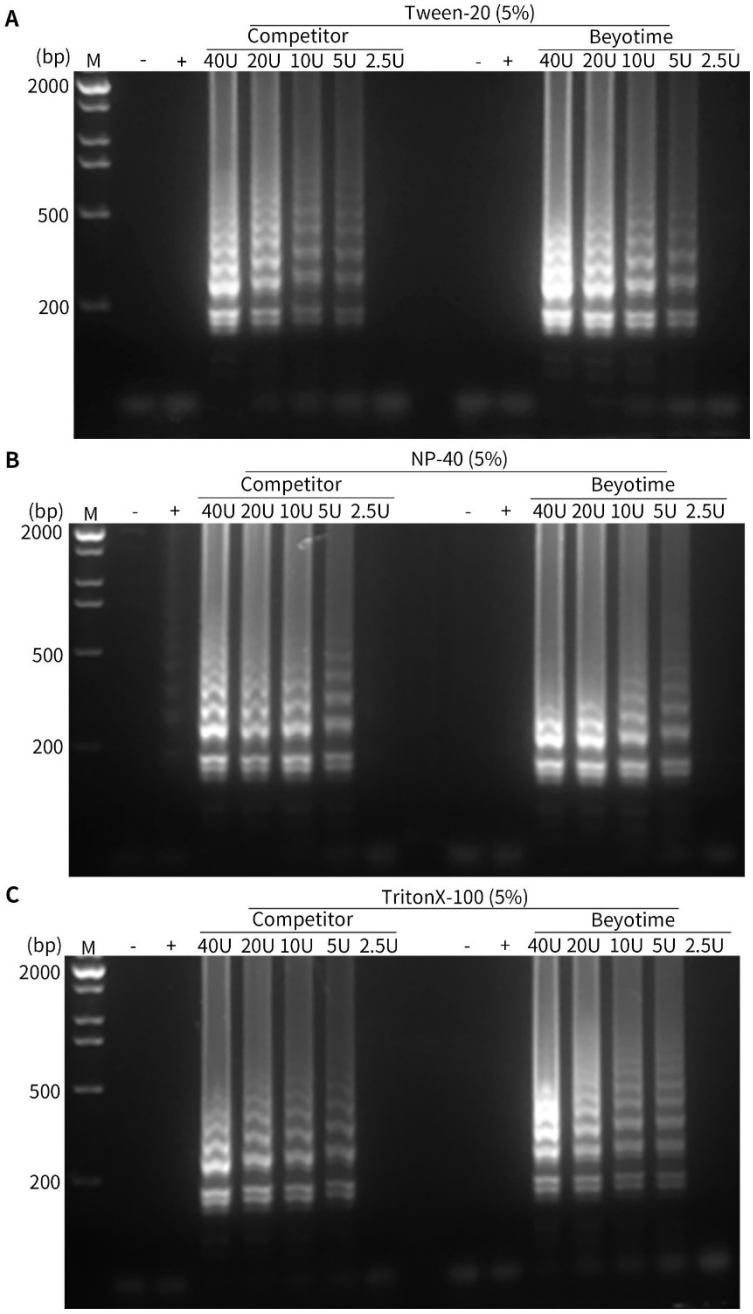

图3. 碧云天*Bst* 6.0 DNA Polymerase (D7046)进行环介导等温扩增反应的高非离子去垢剂耐受性的效果图。在25μl体系，以相同量(0.1ng)的pCMV-Cre-EGFP (D2608)为模板，使用相同量的本产品或N公司(Competitor)的*Bst 2*.0 DNA Polymerase，引物：1.6μM FIP/BIP，0.2μM F3/B3，0.4μM Loop F/B，1.4mM dNTP each，5%非离子去垢剂（A, Tween-20; B, NP-40; C, TritonX-100），在1X *Bst* 6.0 Reaction Buffer (2mM $MgSO_4$)中补加$MgSO_4$至终浓度为8mM，65°C孵育1小时，80°C加热20分钟灭活，然后进行2.0%的琼脂糖凝胶电泳检测。如图所示，本产品与Competitor N公司的产品相比，具有类似对非离子洗涤剂的高耐受性。-，仅未添加酶的阴性对照；+，仅未添加模板的阴性对照; M, DNA marker (DNA Ladder (0.2-12 kb, 12 bands) (D0110))。实际操作时不同实验条件获得的实验结果会略有差异，图中所示结果仅供参考。

- 碧云天生产的*Bst* 6.0 DNA Polymerase进行环介导等温扩增反应可耐受高浓度的钾离子(K^+)参考图4。

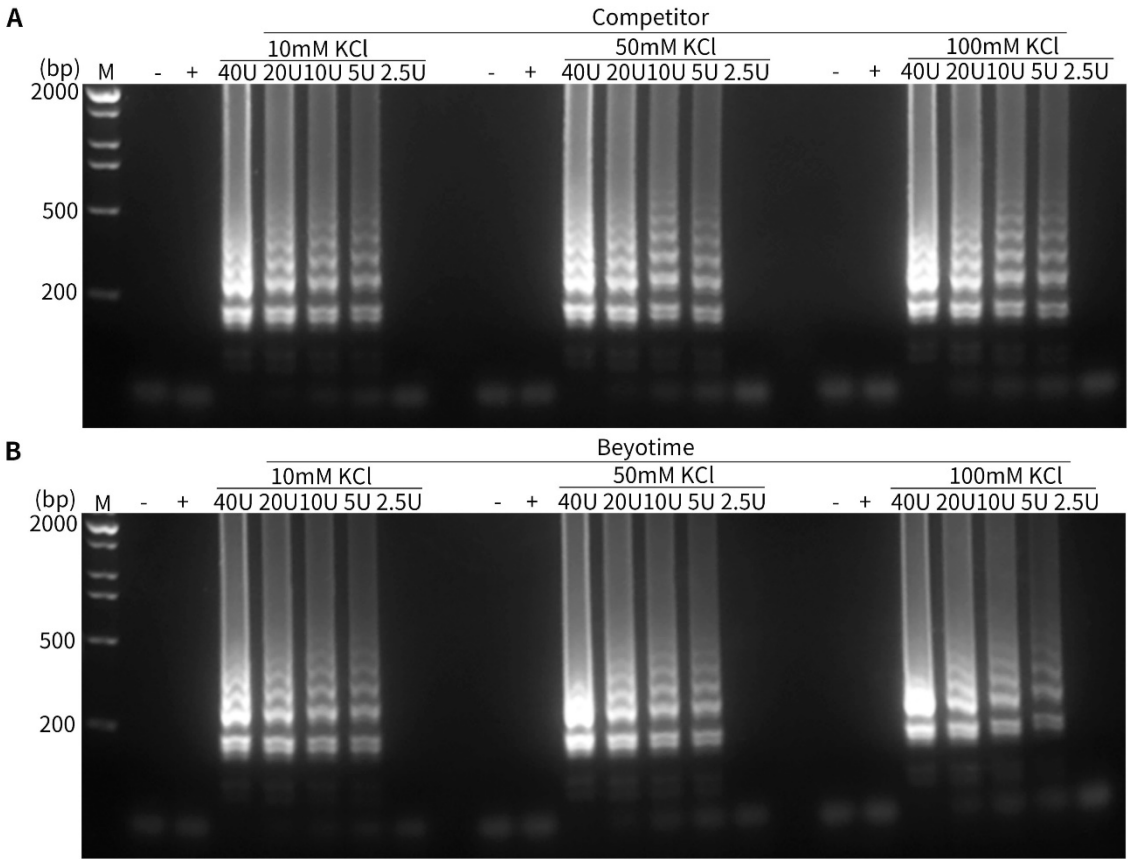

图4. 碧云天*Bst* 6.0 DNA Polymerase (D7046)进行环介导等温扩增反应的耐盐性(K^+)效果图。在25μl体系，以相同量(0.1ng)的pCMV-Cre-EGFP (D2608)为模板，使用不同量的本产品或N公司(Competitor)的*Bst* 2.0 DNA Polymerase，引物：1.6μM FIP/BIP，0.2μM F3/B3，0.4μM Loop F/B，1.4mM dNTP each，在1X *Bst* 6.0 Reaction Buffer (2mM $MgSO_4$)中补加$MgSO_4$至终浓度为8mM，同时补加KCl至终浓度为10mM、50mM或100mM，65°C孵育1小时，80°C加热20分钟灭活，然后进行2.0%的琼脂糖凝胶电泳检测。如图所示，本产品与Competitor N公司的产品相比，具有类似的耐盐性(K^+)。-，仅未添加酶的阴性对照；+，仅未添加模板的阴性对照; M, DNA marker (DNA Ladder (0.2-12 kb, 12 bands) (D0110))。实际操作时不同实验条件获得的实验结果会略有差异，图中所示结果仅供参考。

- **来源：***Bst* 6.0 DNA Polymerase通过大肠杆菌重组表达和纯化而获得。
- **纯度：**无DNA内切酶和外切酶活性。
- **用途：**环介导等温扩增LAMP、交叉引物扩增技术(CPA) 、滚环扩增(RCA)和解旋酶等温扩增（HDA）等DNA等温扩增，多重置换扩增(MDA)，链置换DNA合成，全基因组扩增(WGA)，高GC含量的DNA的测序，纳克级DNA模板的快速测序，建库测序等。
- **酶储存液：**10mM Tris-HCl, 50mM KCl, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 0.1% Triton X-100, 50% Glycerol (pH 7.5 @ 25℃)。
- **10X *Bst* 6.0 Reaction Buffer:** 200mM Tris-HCl, 500mM KCl, 100mM $(NH_4)_2S0_4$, 20mM $MgS0_4$, 1%Tween-20 (pH 8.8 @ 25℃)。
- **失活或抑制：**80°C加热20分钟可使*Bst* 6.0 DNA Polymerase失活。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D7046S-1	*Bst* 6.0 DNA Polymerase (40U/μl)	200μl
D7046S-2	10X *Bst* 6.0 Reaction Buffer	600μl
D7046S-3	100mM $MgSO_4$	400μl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D7046M-1	*Bst* 6.0 DNA Polymerase (40U/μl)	1ml
D7046M-2	10X *Bst* 6.0 Reaction Buffer	3ml
D7046M-3	100mM $MgSO_4$	2ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20°C保存，两年有效。

注意事项：

- *Bst* 6.0 DNA Polymerase不具有5′→3′的核酸外切酶活性。
- 建议等温扩增反应温度不能高于70°C，否则会导致酶失活。
- *Bst* 6.0 DNA Polymerase不能用于热循环测序或PCR。
- 每次等温扩增实验建议设置仅无模板DNA的阴性对照，以排除背景性扩增。
- 酶使用时宜存放在冰盒内或冰浴上，使用完毕后宜立即放置于-20°C保存；
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. **引物设计**。
   环介导的等温扩增引物的设计可以参考http://primerexplorer.jp/e/，建议使用V5版本。具体操作手册可以在http://primerexplorer.jp/e/v5_manual/index.html下载。环介导等温扩增引物的初步筛选可参照该操作手册，具体需要通过实验来验证比较合适的引物。LAMP引物由4个或6个(含Loop)引物组成，建议加入Loop环引物设计，即设计6条引物进行实验。
2. **以LAMP等温扩增为例，参考下表设置反应体系**。

Reagent	Volume	Final concentration
Nuclease-free Water (ST876)	(15.6-x)μl	-
10X *Bst* 6.0 Reaction Buffer	2.5μl	1X
$MgSO_4$ (100mM) (ST1488)	1.5μl	6mM (8mM total)
dNTP (25mM each) (D7373)	1.4μl	1.4mM each
FIP/BIP Primers (25X, 40μM)	1μl	1.6μM
F3/B3 Primers (25X, 5μM)	1μl	0.2μM
Loop F/B Primers (25X, 10μM)	1μl	0.4μM
Template	xμl	> 10 copies or more
Bst 6.0 DNA Polymerase (40U/μl)	1μl	1600U/ml
Total volume	25μl	-

   注1：在配制反应体系完成后，可每25μl体系的反应管管盖加适量高浓度的SYBR Green I 1μl，待等温扩增反应结束后，8000×g离心1分钟，反应体系变荧光绿为阳性，保持无色或棕色为阴性。也可以无需添加指示剂，待反应程序结束后，可见反应液明显变浑浊为阳性，反应液保持透明为阴性。
   注2：如需优化反应，可调整Mg^{2+}浓度(4-10mM)，酶量(0.04-0.32U/μl)或改变反应温度(50-68°C)。
   注3：如果通过琼脂糖凝胶电泳或其它需要打开LAMP反应容器的方法进行分析，请设置辅助分析区域和设备，以避免污染。
   注4：由于反应比较迅速，为了确保实验的重现性，建议模板DNA最后加入。
   注5：强烈建议设置未加模板的阴性对照，以确保扩增的特异性。
   注6：为了防止在配制试剂时发生污染，请务必在超净工作台内进行操作。
   注7：试剂及模板DNA的配制操作尽量需要和PCR产物的电泳等分析在不同的区域进行，以免发生污染。
3. **反应程序：65°C 60分钟**。
4. **灭活：80°C 20分钟**。
5. **如实验需要，可以用2.0%的琼脂糖凝胶进行电泳分析，电泳图显示扩增产物为梯度条带为阳性，无梯度条带为阴性**。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D7046S	*Bst* 6.0 DNA Polymerase	8kU
D7046M	*Bst* 6.0 DNA Polymerase	40kU
D7050S	*Bst* DNA Polymerase, Large Fragment	800U
D7050M	*Bst* DNA Polymerase, Large Fragment	4000U
D7053S	phi29 DNA Polymerase	250U
D7053M	phi29 DNA Polymerase	1kU
D7053L	phi29 DNA Polymerase	5kU
D7053XL	phi29 DNA Polymerase	20kU
D7055S	*Bsu* DNA Polymerase, Large Fragment	200U
D7055M	*Bsu* DNA Polymerase, Large Fragment	1000U
D7359-250μl	dUTP (100mM)	250μl
D7359-1ml	dUTP (100mM)	1ml

D7360S	Uracil-DNA Glycosylase (*E. coli*)	1000U
D7360M	Uracil-DNA Glycosylase (*E. coli*)	5000U
D7362S	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Bacterium)	100U
D7362M	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Bacterium)	500U
D7364S	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod)	200U
D7364M	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod)	1000U
D7364L	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod)	5000U
D7371	dNTP Mixture (2.5mM each)	1ml
D7373	dNTP Mixture (25mM each)	250μl
D7376-1ml	dNTP/dUTP Mixture (2.5mM each/5mM)	1ml
D7376-5ml	dNTP/dUTP Mixture (2.5mM each/5mM)	5ml

Version 2023.08.01