

描述：该酶来源于 *Bacillus Stearotherophilus* DNA Polymerase I, 通过基因工程手段去除了其 5'-3' 外切酶活性, 而保留了 5'-3' 聚合酶活性。该酶具有很强的链置换能力, 因此是 Isothermal amplification (LAMP, RT-LAMP) 的绝佳用酶。与野生型 Bst DNA 聚合酶 (大片段) 相比, 该酶在扩增速度、产量、耐盐性和热稳定性等方面均有大幅提高, 同时, 该酶可以使用部分 (50%~75%) dUTP 代替 dTTP 作为底物进行扩增 (Bst 大片段无此活性)。

组分

名称	1600U	16KU
Bst 2.0 Polymerase (8U/μl)	200 μl	1 ml x 2
10×IsoAmp Buffer1(Mg ²⁺ free)	1.5 ml	15 ml
100 mM Mg ²⁺	1 ml	10 ml

酶储存液: 10 mM Tris-HCl, 150 mM KCl, 2 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50% Glycerol, pH7.5.

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

应用:

DNA 等温扩增

富含 GC 结构的快速测序

微量模板 DNA 的快速测序

失活:

85°C, 5min 失活。

储存: -20°C 可保存 3 年。

典型的 LAMP 反应

1. 按以下组分配制 LAMP 反应液

Bst 2.0 Polymerase (8U/μl)	0.5~1 μl
10×IsoAmp Buffer1(Mg ²⁺ free)	2.5 μl
dNTP Mixture(10mM each)	2.5 μl
100 mM Mg ²⁺	1.5 μl
*10X Primers	2.5 μl
模板 DNA	10ng
ddH ₂ O Up to	25 μl

*10X Primers: 16 μM FIP/BIP, 2 μM F3/B3, 4 μM LoopF/B each。

2. 65°C 30~60min; 85°C 5min 失活。

使用注意事项:

- (1) Mg²⁺ 的使用浓度为 4~10 mM 浓度, IsoAmp Buffer 中不含 Mg²⁺, 通常情况下, 在 6-8 mM Mg²⁺ 条件下可获得较好的 LAMP 结果。
- (2) dNTP 推荐的使用浓度为 1 mM, 必要条件下可在 0.5~1.25 mM 间调整。
- (3) 使用无模板 DNA 作为对照检测扩增的特异性。
- (4) 在体系中加入 50 mM 的 GuHCl 能显著加速 LAMP 扩增约 3~4min。