

描述: 与Bst 2.0 DNA 聚合酶和Bst DNA 聚合酶大片段相比, Bst 3.0 DNA聚合酶具有更佳的等温扩增活性和更强的逆转录活性。无论以DNA还是RNA为模板, 该酶都具有5'-3'的DNA聚合酶活性和强烈的链置换活性, 但该酶5'-3'和3'-5'的外切酶活性缺失。

在以RNA为模板的LAMP实验中, 可实现单酶系统反应。该酶在60-65°C之间具有很好的反转录活性, 可有效解决具有二级复杂结构的RNA模板的反转录, 而Bst 2.0 DNA 聚合酶和Bst DNA 聚合酶大片段无此活性。

组分

名称	1600U	16KU
Bst 3.0 Polymerase (8U/μl)	200 μl	1 mlx2
10xIsoAmp 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/RNA 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 3.0 Polymerase (8U/μl)	0.5~1 μl
10xIsoAmp 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/RNA	10 ng
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。