

描述: Bst 2.0 DNA Polymerase 经电子重构架和进化筛选 (in silico Design & invitro Evolution), 其为 Bst 2.0 的 HotStart 版本, 用于 DNA 的 LAMP 扩增。

性能提升包括: (1) Bst 2.0 包含热启动 Aptamer, 该配体确保酶在<30°C 时, 酶活封闭效率>90%, 在>60°C 时 1min 内完全释放酶活。该特性利于室温建立反应体系, 并大幅降低了低温条件下的非特异扩增; (2) 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	1600 U	16 KU
HS Bst2.0 Pol-GFree(16U/μl)	100μl	1 ml
10×IsoAmp Buffer2(Mg ²⁺ free)	1.5 ml	15 ml
100mM Mg ²⁺	1ml	10 ml
10xGuHCl	1.5ml	15 ml

注意: HotStart Bst 2.0 DNA Polymerase (16U/μl) 与 10×IsoAmp Buffer2 均不含甘油, 可用于冻干体系。10xGuHCl 为 500mM, 1x 下 50mM 的 GuHCl 能显著加速 LAMP 扩增约 3~4min, 必要时还可以作为样本的裂解液。

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

储存: 长期保存请置于-20°C 以下 (2 年有效); 制品反复冻融 10 次不影响性能, 但应避免反复冻融; 制品一经融化推荐置于 2-8°C 保存, 在此条件下制品稳定储存 1 个月。

其它说明:

- (1) HotStart Bst 2.0& 4.0 Polymerase 在用于 LAMP 扩增时的推荐反应温度为 65°C。
- (2) 制品中包含高浓度的盐组分, 使用时做好个人防护, 防止制品与皮肤、眼、鼻、呼吸道等接触和吸入, 一旦接触或吸入, 请用大量的清水冲洗。
- (3) 防止气溶胶污染, 尽可能进行分区操作。

典型的 LAMP 反应

1. 按以下组分配制 LAMP 反应液

HS Bst 2.0 Pol-GFee (16U/μl)	0.25~0.5 μl
10×IsoAmp Buffer2(Mg ²⁺ free)	2.5 μl
10xGuHCl	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	10ng
ddH2O 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) GuHCl 具有强腐蚀性, 不建议冻干入球, 推荐采用 250 mM 或 500 mM 的 GuHCl 来裂解、变性样本后, 一起加入反应体积 (5 μl 或 2.5 μl)。