

产品组分

组分名称	组分目录号	规格-1	规格-2
		1600 U	8000 U
Ruby Bst DNA Polymerase(8,000 U/mL)	RM20553	200 µL	1 mL
10X Isothermal Amplification Buffer II	RM20832	1.25 mL	1.25 mL*2
MgSO4 (100 mM)	RM20143	1.25 mL	1.25 mL*2

产品说明

Ruby Bst DNA Polymerase 来源于 *Geobacillus stearothermophilus* DNA Polymerase I (large fragment), 不含有 5'-3' 核酸外切酶活性。本产品具有 5'-3' DNA 聚合酶活性及链置换活性, 在扩增速度, 耐热性、耐抑制剂方面, 均优于野生型, 非常适合于防污染的等温扩增反应, 如 LAMP 等。

产品来源

基因工程改造 *Geobacillus stearothermophilus* DNA Polymerase I (large fragment), 在 *E. coli* 中重组表达并经多步纯化精制而成。

应用场景

等温扩增反应: 如 LAMP。

活性定义

1U 定义为: 在 65°C 反应 30min 条件下, 能使 25 nmol 的 dNTP 掺入酸不溶性沉淀物所需的该酶酶量。

保存条件

-20°C, 避免反复冻融

热失活

80°C, 20min 失活。

自备材料

试剂: dNTP Mix, FIP/BIP Primers, F3/B3 Primers, LoopF/LoopB Primers, Nuclease-free Water。

仪器: PCR 仪或水浴锅。

操作说明

1. 典型的 LAMP 反应

组分	反应体系	最终浓度
10X Isothermal Amplification Buffer II	2.5 µl	1X (contains 2 mM MgSO4)
MgSO4 (100 mM)	1.5 µl	6 mM
dNTP Mix (10 mM)	3.5 µl	1.4 mM each
Primers (25X)	1 µl	1.6 µM FIP/BIP, 0.2 µM F3/B3, 0.4 µM Loop F/B
Ruby Bst DNA Polymerase(8,000 U/mL)	1 µl	/
DNA Sample	variable	/
Nuclease-free Water	to 25 µl	

2. 65°C 孵育 30-60 min. 80°C 20min 失活反应。

注意事项

- 1) 建议试剂预混、模板添加和检测三项尽可能在不同空间操作，避免试剂等污染，影响后续实验；
- 2) 反应受 Mg^{2+} 或酶影响较大，如反应结果不理想， Mg^{2+} 的终浓度可在 4-10 mM 之间调整。必要时，可以滴定 Bst 酶活性，以达到最佳效果；
- 3) 可同时设计 2-3 组引物，选择最好的一组进行实验；
- 4) 使用无模板 DNA 作为对照检测扩增的特异性；
- 5) 反应结束后，如进行开盖操作，务必先进行热失活再开盖检测。
- 6) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。