

Bst 8.0 DNA Polymerase

产品编号	产品名称	包装
D7048S	Bst 8.0 DNA Polymerase	8kU
D7048M	Bst 8.0 DNA Polymerase	40kU

产品简介:

- 碧云天研发生产的 *Bst* 8.0 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* 8.0 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* 8.0 DNA Polymerase 介导的等温扩增温度一般在 50-72°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。
- 本产品与同类公司的 *Bst* 3.0 DNA Polymerase 相比, 不仅具有相当的 DNA 聚合酶活性 (图1)、链置换能力、dUTP 耐受性和耐高温特性 (可耐受 72°C) (图2); 并具有更好的逆转录酶活性和更强的 dUTP 耐受性 (图3和图4), 可应用于逆转录环介导的等温扩增 (Reverse Transcription Loop-mediated isothermal amplification, RT-LAMP)。
- 本产品具有 *Bst* 6.0 DNA Polymerase (D7046) 的所有优秀特性; 与 *Bst* 6.0 DNA Polymerase 相比, 本产品不仅具有相当的 DNA 聚合酶活性 (图1)、链置换能力、耐盐性和非离子去垢剂耐受性, 还具有更好的耐高温特性 (可耐受 72°C) (图2)、更好的逆转录酶活性和更强的 dUTP 耐受性 (图3和图4)。
- **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* 8.0 DNA Polymerase 酶活性效果参考图1。本产品与 N 公司 (Competitor) 的产品和 *Bst* 6.0 DNA Polymerase (D7046) 相比, 在反应达到平台期时 (反应1小时) 具有相当的扩增效果。

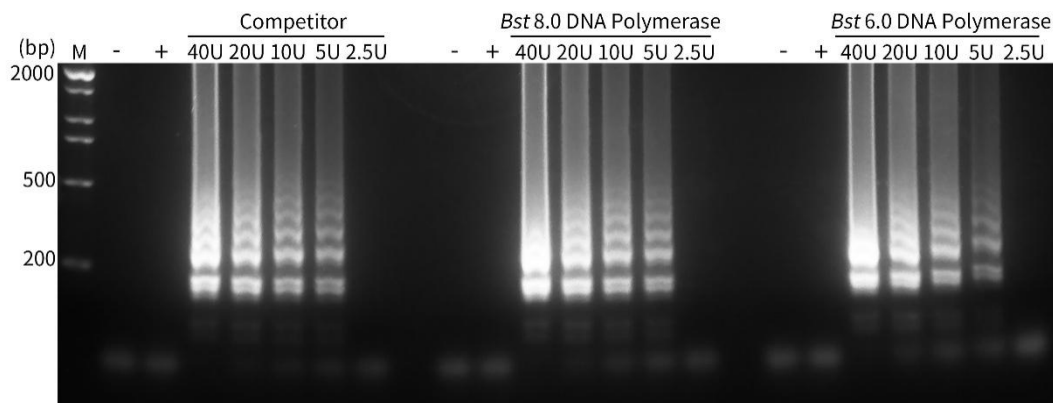


图1. 碧云天 *Bst* 8.0 DNA Polymerase (D7048) 进行环介导等温扩增 (LAMP) 反应的效果图。在 25μl 体系, 以相同量 (0.1ng) 的 pCMV-Cre-EGFP (D2608) 为模板, 使用不同剂量的碧云天的本产品、*Bst* 6.0 DNA Polymerase (D7046) 和 N 公司 (Competitor) 的 *Bst* 3.0 DNA Polymerase, 引物: 1.6μM FIP/BIP, 0.2μM F3/B3, 0.4μM Loop F/B, 1.4mM dNTP each, 在 1X *Bst* 8.0 Reaction Buffer (2mM MgSO₄) 中补加 MgSO₄ 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 公司的产品和 *Bst* 6.0 DNA Polymerase (D7046) 相比, 在反应达到平台期时 (反应 1 小时) 具有相当的扩增效果。-, 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* 8.0 DNA Polymerase 在酶量相当的情况下, 与 N 公司 (Competitor) 的 *Bst* 3.0 DNA Polymerase 相比, 其实时荧光定量环介导等温扩增 (LAMP) 具有更快的反应速度, 并且即使在酶量饱和的情况下也比 N 公司的同类产品具有更快的反应速度 (图2)。

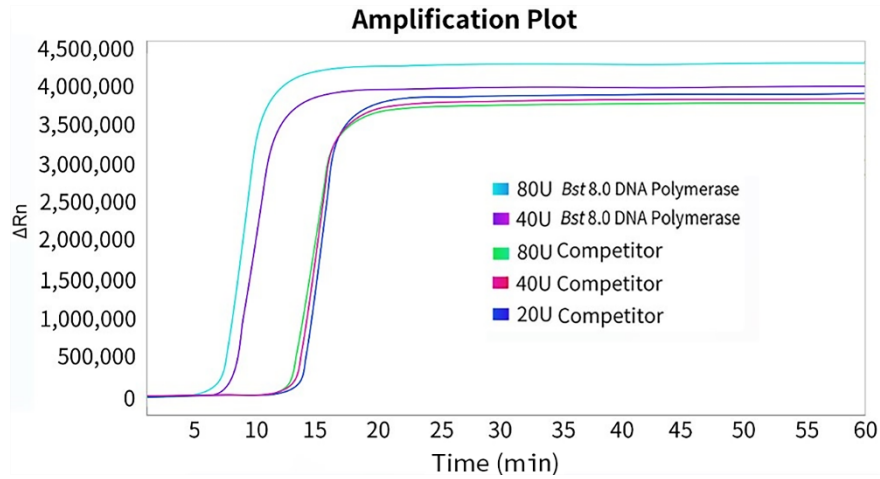


图2. 碧云天生产的*Bst* 8.0 DNA Polymerase与N公司(Competitor)的*Bst* 3.0 DNA Polymerase相比, 在酶量相当或酶量饱和的情况下, 其实时荧光定量环介导等温扩增(LAMP)都具有更快的反应速度。在25 μ l体系, 以相同量(0.1ng)的pCMV-Cre-EGFP (D2608)为模板, 使用相同量的本产品 and N公司(Competitor)的*Bst* 3.0 DNA Polymerase, 引物: 1.6 μ M FIP/BIP, 0.2 μ M F3/B3, 0.4 μ M Loop F/B, 1.4mM dNTP each, 在1X *Bst* 8.0 Reaction Buffer (2mM MgSO₄)中补加MgSO₄至终浓度为8mM, 进行实时荧光定量LAMP反应(PCR程序: 65°C 15s, 65°C 45s (采集信号); 溶解曲线程序: 95°C 15s, 65°C 15s, 95°C 15s)。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* 8.0 DNA Polymerase进行环介导等温扩增(LAMP)反应可耐受72°C高温的效果图参考图3。

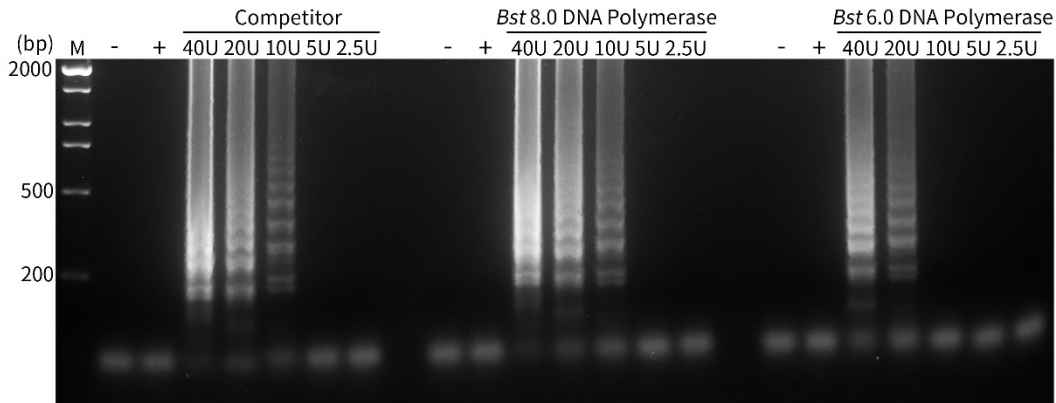


图3. 碧云天*Bst* 8.0 DNA Polymerase (D7048)进行环介导等温扩增(LAMP)反应的耐高温(72°C)效果图。在25 μ l体系, 以相同量(0.1ng)的pCMV-Cre-EGFP (D2608)为模板, 使用不同剂量的本产品、*Bst* 6.0 DNA Polymerase (D7046)和N公司(Competitor)的*Bst* 3.0 DNA Polymerase, 引物: 1.6 μ M FIP/BIP, 0.2 μ M F3/B3, 0.4 μ M Loop F/B, 1.4mM dNTP each, 在1X *Bst* 8.0 Reaction Buffer (2mM MgSO₄)中补加MgSO₄至终浓度为8mM, 72°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, 具有类似的耐高温(72°C)特性; 与*Bst* 6.0 DNA Polymerase (D7046)的产品相比, 具有更佳的耐高温特性(72°C)。-, 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* 8.0 DNA Polymerase进行实时荧光定量逆转录环介导等温扩增反应(RT-LAMP)具有更快的反应速度(图4)。

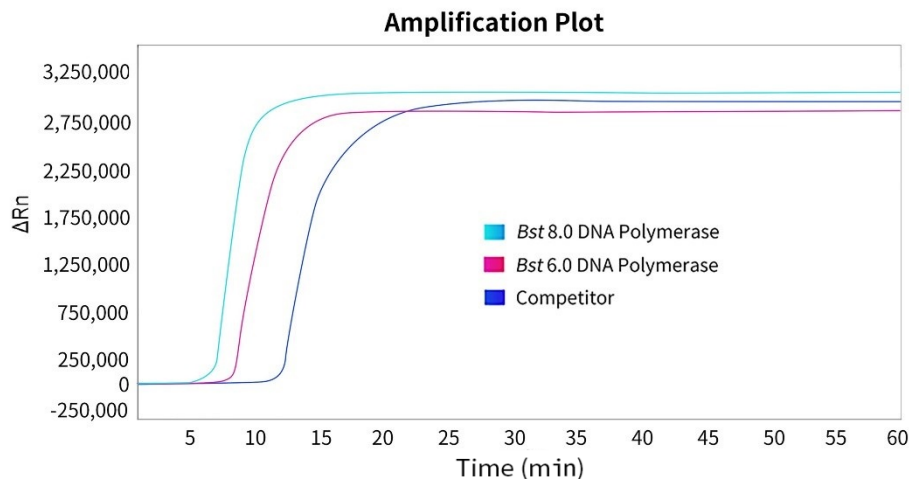


图4. 碧云天*Bst* 8.0 DNA Polymerase (D7048)进行实时荧光定量逆转录环介导等温扩增反应(RT-LAMP)的效果图。在25 μ l体系,

以相同病毒滴度(2×10^3 IU)的RNA病毒(新冠病毒(2019-nCoV)的N基因假病毒(C3021))为模板, 使用相同量的本产品、*Bst* 6.0 DNA Polymerase (D7046)和N公司(Competitor)的*Bst* 3.0 DNA Polymerase, 引物: 1.6 μ M FIP/BIP, 0.2 μ M F3/B3, 0.4 μ M Loop B, 1.4mM dNTP each, 在1X *Bst* 8.0 Reaction Buffer (2mM MgSO₄)中补加MgSO₄至终浓度为8mM, 进行实时荧光定量RT-LAMP反应(PCR程序: 65°C 15s, 65°C 45s (采集信号); 溶解曲线程序: 95°C 15s, 65°C 15s, 95°C 15s)。如图所示, 碧云天*Bst* 8.0 DNA Polymerase (D7048)和*Bst* 6.0 DNA Polymerase (D7046)比N公司(Competitor)的产品具有更快的反应速度。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* 8.0 DNA Polymerase进行实时荧光定量逆转录环介导等温扩增反应(RT-LAMP)可耐受高浓度的dUTP(图5)。

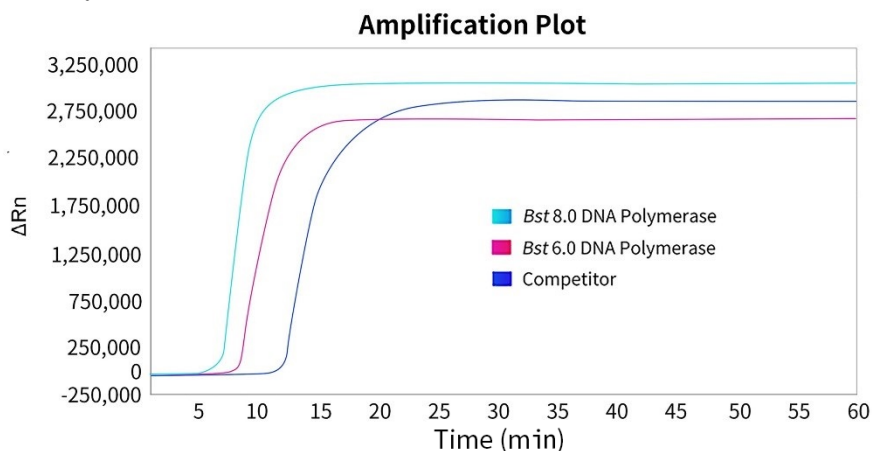


图5. 碧云天*Bst* 8.0 DNA Polymerase (D7048)进行实时荧光定量逆转录环介导等温扩增反应(RT-LAMP)的高dUTP耐受性的效果图。在25 μ l体系, 以相同病毒滴度(2×10^3 IU)的RNA病毒(新冠病毒(2019-nCoV)的N基因假病毒(C3021))为模板, 使用相同量的本产品、*Bst* 6.0 DNA Polymerase (D7046)和N公司(Competitor)的*Bst* 3.0 DNA Polymerase, 引物: 1.6 μ M FIP/BIP, 0.2 μ M F3/B3, 0.4 μ M Loop B, 1.4mM dNTP each, 1.4mM dUTP, 0.04U UDGase (D7360), 在1X *Bst* 8.0 Reaction Buffer (2mM MgSO₄)中补加MgSO₄至终浓度为8mM, 进行实时荧光定量RT-LAMP反应(PCR程序: 65°C 15s, 65°C 45s (采集信号); 溶解曲线程序: 95°C 15s, 65°C 15s, 95°C 15s)。如图所示, 碧云天*Bst* 8.0 DNA Polymerase (D7048)和*Bst* 6.0 DNA Polymerase (D7046)比N公司(Competitor)的产品在相同高dUTP浓度(1.4mM dUTP)时具有更快的反应速度, 即更好的耐受性, 其中*Bst* 8.0 DNA Polymerase (D7048)效果最佳。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* 8.0 DNA Polymerase与N公司(Competitor)的*Bst* 3.0 DNA Polymerase相比, 在酶量相当或酶量饱和的情况下, 其实时荧光定量逆转录环介导等温扩增反应(RT-LAMP)具有更快的反应速度(图6)。

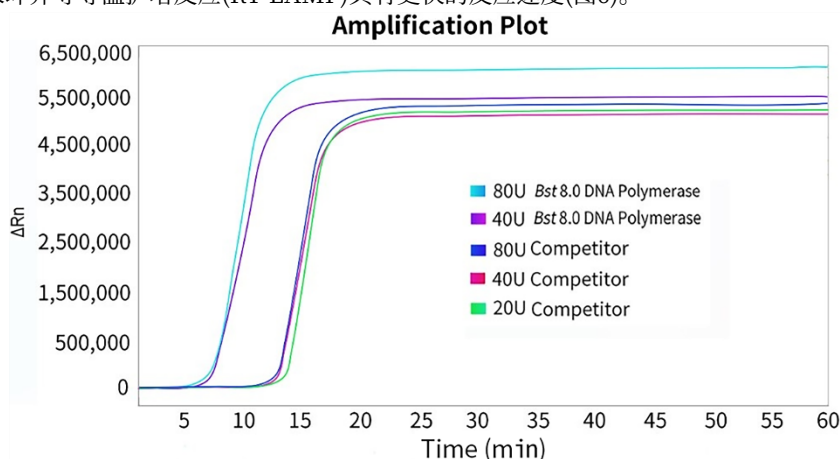


图6. 碧云天生产的*Bst* 8.0 DNA Polymerase与N公司(Competitor)的*Bst* 3.0 DNA Polymerase相比, 在酶量相当或酶量饱和的情况下, 其实时荧光定量逆转录环介导等温扩增反应(RT-LAMP)具有更快的反应速度。在25 μ l体系, 以相同病毒滴度(2×10^3 IU)的RNA病毒(新冠病毒(2019-nCoV)的N基因假病毒(C3021))为模板, 使用相同量的本产品和N公司(Competitor)的*Bst* 3.0 DNA Polymerase, 引物: 1.6 μ M FIP/BIP, 0.2 μ M F3/B3, 0.4 μ M Loop B, 1.4mM dNTP each, 在1X *Bst* 8.0 Reaction Buffer (2mM MgSO₄)中补加MgSO₄至终浓度为8mM, 进行实时荧光定量RT-LAMP反应(PCR程序: 65°C 15s, 65°C 45s (采集信号); 溶解曲线程序: 95°C 15s, 65°C 15s, 95°C 15s)。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* 8.0 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)、逆转录环介导等温扩增(RT-LAMP) (反应温度可达72°C)、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°C)。
- **10X *Bst* 8.0 Reaction Buffer:** 200mM Tris-HCl, 500mM KCl, 100mM (NH₄)₂S₀₄, 20mM MgSO₄, 1% Tween-20 (pH 8.8 @

25°C)。

➤ **失活或抑制：**80°C加热5分钟可使*Bst* 8.0 DNA Polymerase失活。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D7048S-1	<i>Bst</i> 8.0 DNA Polymerase (40U/μl)	200μl
D7048S-2	10X <i>Bst</i> 8.0 Reaction Buffer	600μl
D7048S-3	100mM MgSO ₄	400μl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D7048M-1	<i>Bst</i> 8.0 DNA Polymerase (40U/μl)	1ml
D7048M-2	10X <i>Bst</i> 8.0 Reaction Buffer	3ml
D7048M-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* 8.0 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72°C，否则会导致酶较快失活。
- *Bst* 8.0 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 <i>Bst</i> 8.0 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
DNA or RNA Sample	xμl	> 10 copies or more
<i>Bst</i> 8.0 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Mg²⁺浓度(4-10mM)，酶量(0.04-0.32U/μl)或改变反应温度(50-72°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 5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	<i>Bst</i> 6.0 DNA Polymerase	8kU
D7046M	<i>Bst</i> 6.0 DNA Polymerase	40kU
D7048S	<i>Bst</i> 8.0 DNA Polymerase	8kU
D7048M	<i>Bst</i> 8.0 DNA Polymerase	40kU
D7050S	<i>Bst</i> DNA Polymerase, Large Fragment	800U
D7050M	<i>Bst</i> 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	<i>Bsu</i> DNA Polymerase, Large Fragment	200U
D7055M	<i>Bsu</i> DNA Polymerase, Large Fragment	1000U
D7359-250µl	dUTP (100mM)	250µl
D7359-1ml	dUTP (100mM)	1ml
D7360S	Uracil-DNA Glycosylase (<i>E. coli</i>)	1000U
D7360M	Uracil-DNA Glycosylase (<i>E. coli</i>)	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 2023.10.31