Bst 3.0 HS

货号：E105

2026V01

产品概述

Bst DNA 聚合酶来源于 *Bacillus stearothermophilus* DNA Polymerase I，通过基因工程技术保留了 5’→3’ DNA 聚合酶活性，去除了 5’→3’外切酶活性，具有链置换能力，可用于 DNA 链置换反应和 LAMP (Loop-mediated isothermal amplification)扩增等。Bst3.0 HS 是在经基因改造的 Bst 3.0 DNA 聚合酶的基础上采用可逆性修饰技术获得的热启动恒温扩增酶，能够在室温下完全封闭酶的活性，因此可在室温下建立反应，防止非特异性扩增，提高反应效率。另外，Bst 3.0 HS 不需要单独的激活步骤。Bst 3.0 为新一代 Bst 酶，灵敏度高，样本兼容度高，对 dUTP 具有一定的耐受性。

规格

8 U/μL

试剂组成

1．8 U/μL Bst 3.0 HS

2．10×LAMP Buffer (Mg^{2+} free) (选配)

3．35.71×$MgSO_4$ (选配)

*10×LAMP Buffer (Mg^{2+} free)不含 dNTP 和 Mg^{2+}，反应体系配制时请加入 dNTPs 和 $MgSO_4$ 使用。

活性定义

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

热失活

85°C，5 min 或 95°C，2 min。

保存条件

-20±5°C存储；使用前应混匀，避免反复冻融。

*本品冷藏后如若出现沉淀，属于正常现象；建议平衡至室温后再混匀使用。

适用范围

1. DNA 链置换反应。
2. LAMP 等温扩增。
3. 富含 GC 模板和纳克级模板的 DNA 测序。

LAMP 反应体系配制

Component	Volume per Reaction	Concentration in Master Mix
10×LAMP Buffer (Mg^{2+} free) [1]	5 μL	1×
dNTPs (25 mM each dNTP)	2.8~3.2 μL	1.4~1.6 mM
35.71×$MgSO_4$	1.2~1.6 μL	1×
8 U/μL Bst 3.0 HS	2 μL	16 U
50×Eva Green [2]	1 μL	1×
10×Primer Mix [3]	5 μL	1×
Template [4]	——	——
ddH_2O	To 50 μL	——

1. 该 Buffer 不含 dNTP 和 Mg^{2+}，必须补充加入 dNTPs 和 $MgSO_4$ 使用。
2. 50×Eva Green 可用其他染料替代，不同染料的用量需要根据实验调整。
3. 10×Primer Mix: 16μM FIP, 16 μM BIP, 2 μM F3, 2 μM B3, 4 μM LoopF and 4 μM LoopB in TE。
4. 为了获得较佳扩增效果，添加适当的模板，如质粒 10 fg~1 ng、基因组 1ng~100 ng、适量的 DNA 提取液处理的模板。

反应条件

60~65℃，30~60 min(每 min 收集荧光)。

常见问题及解答

LAMP 扩增产物少或没有扩增：

1. 增加模板量，增加酶量。
2. 更换引物，建议多设计几组引物，通过预实验筛选最佳引物。引物的设计请参考 http://primerexplorer.jp/e/。
3. 尽量使用环引物，可以提高扩增效率、缩短扩增时间。