

BcaBEST™ DNA Polymerase

ver.2.0

Code No. RR380A 包装量: 1,600 U
浓度: 8 U/μl

附带试剂:

BcaBEST DNA Polymerase ver.2.0 200 μl
2X BcaBEST Buffer 1.25 ml x 2

制品说明

BcaBEST DNA Polymerase ver.2.0 来源于嗜热细菌 *Bacillus caldotenax*, 是 BcaBEST DNA Polymerase 的升级版本, 缺少 5' → 3' 核酸外切酶活性。通过引入突变, 使该酶在保留原始的强链置换活性的同时, 具有更高的 DNA 聚合酶和逆转录酶活性。因此, 可使用本酶在短时间内对少量核酸进行等温扩增实验。本制品附带的反应 buffer 中包含 dNTP, 可以直接用于 LAMP (环介导等温扩增) 检测。

保存: -20°C

起源

Escherichia coli carrying a plasmid containing the gene for BcaBEST DNA Polymerase ver.2.0

性质

分子量: 约 68 kDa。

活性定义

在 65°C, 30 分钟内, 摄入 210 nmol 的 dNTP 为酸性不溶物的活性定义为 1 个活性单位 (U)。

活性定义反应液

25 mM	TAPS, pH9.3, 25°C
50 mM	KCl
2 mM	MgCl ₂
0.1 mM	DTT
200 μM	dATP · dGTP · dCTP each
100 μM	dTTP
10 μCi	[³ H]-dTTP
0.25 mg/ml	activated salmon sperm DNA

质量控制

请查阅各批次 Certificates of Analysis (CoA)。产品 CoA 请在 Takara Bio Inc. 网站中下载:
https://catalog.takara-bio.co.jp/search/doc_index.php。

用途

1. LAMP (环介导等温扩增)
2. RCA (滚环扩增)

使用注意

1. 酶不要剧烈搅拌。
2. 在制备反应液的过程中应特别小心, 以避免污染。产物分析需要与反应液制备在不同的区域进行。
3. 不建议反应温度超过 70°C。因此, 本酶不能用于常规 PCR。

LAMP 使用例

Nuclease-free water		x μl
2X BcaBEST Buffer		12.5 μl
10X LAMP primer mix*1		2.5 μl
BcaBEST DNA Polymerase ver.2.0 (8 U/μl)	0.3 - 1	μl*2
Sample*3		e.g. 2 μl
Total		25 μl

60 - 65°C 孵育 30 分钟。*4

*1 FIP/BIP primers : 16 μM

F3/B3 primers : 2 μM

LoopF/B primers : 8 μM

*1,2,4 根据目的基因和引物的序列优化反应体系, 包括引物和酶的浓度, 以及反应温度和时间。高浓度的酶会减少检测 (扩增) 时间, 但是有增加非特异性扩增的风险。强烈建议加入无模板的对照反应, 以确保反应结果的特异性。

*3 为了防止在制备过程中发生非特异性反应, 样品应该最后添加。如果以 RNA 为模板, 添加 Reverse Transcriptase XL (AMV) (5 U/μl) 至终浓度为 0.04 U/μl。

注意: 反应产物的检测有多种方法, 例如肉眼观察颜色指示反应和实时荧光定量 PCR 仪做荧光检测等。可根据您的实验目的选择合适的方法。

参考文献

- 1) Tomita N, Mori Y, Kanda H, and Notomi T. *Nat Protoc.* (2008) 3: 877-882.
- 2) Zhao Y, Chen F, Li Q, Wang L, and Fan C. *Chem Rev.* (2015) 115: 12491-12545.

关联产品

Reverse Transcriptase XL (AMV) for RT-PCR Kit (Code No. 2630A)
RNase-free Water (Code No. 9012)

BcaBEST is a trademark of Takara Bio Inc.

注意

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经 Takara Bio Inc. 书面许可或批准, 不得制造、许诺销售、销售、进口 Takara 产品, 或者使用 Takara 产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权, 请联系我们, 或访问我们网站 www.takarabio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术 (北京) 有限公司翻译制作, 最新版本文件请参考 Takara Bio Inc. 网站。为正确使用 Takara 产品, 您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v202211Da