

描述: SD2.0 DNA Polymerase 是一种具有强链置换活性 (Strand Displacement) 的新型耐热 DNA 聚合酶。该酶具有 Phi29 和 Bst DNA 聚合酶的链置换活性和持续合成能力, 并可耐受 95°C 的高温。这些特性使得该酶成为 PCDR (Polymerase Chain Displacement Reaction) 的最佳用酶。此外, 该酶可用于 LAMP、tHDA、RCA 以及 NGS 文库的构建。该酶具有 5'-3' 的聚合酶活性、5'-3' 的链置换活性、该酶无 5'-3' 的外切酶活性, 扩增速度为 1kb/min、

SD2.0 DNA Polymerase 采用了 HaiGene 的电子重构架技术改造而成。HotStart 版本采用了适配体技术进行封闭, 使得该酶 30°C 以下 90% 以上的酶活被封闭, 在 55°C 以上完全释放酶活。其在 72°C 具有最佳活性。

组 分

	500U	2500U
HS Apta-SD2.0 Pol (10 U/μl)	50 μl	250 μl
10XHGamp Buffer1.2(Mg ²⁺ free)	1.5 ml	1.5 ml
10XHGamp Buffer2.2(Mg ²⁺ free)	1.5 ml	1.5 ml×5
100 mM Mg ²⁺	1 ml	1 ml

(1) HGamp Buffer1.2 (适合 LAMP 恒温扩增), 而 HGamp Buffer2.2 (适合 PCDR 扩增), 两者均不含 Mg²⁺。

(2) SD2.0 Pol 储存 Buffer: 10 mM Tris-HCl, pH8.0, 150 mM NaCl, 2 mM DTT, 50%Glycerol。

(3) 储存: 置于 -20°C 以下, 可保存 2 年。

(一) PCDR 的扩增应用

10×HGamp Buffer2.2(Mg ²⁺ free)	5 μl
HS Apta-SD2.0 Pol(10 U/μl)	0.2 μl
100mM Mg ²⁺	0.75 μl
dNTP Mixture (10 mM each)	1 μl
Inner Primer each (10 μM)	0.5 μl
Out Primer each (10 μM)	0.25 μl
模板 DNA	x μl
ddH ₂ O	up to 50 μl

注意: 在 PCDR 扩增时, SD Pol 酶的使用浓度为

0.04 U/μL, 必要时可在 0.02-0.08 U/μL 之间调整。

在 PCDR 扩增时推荐的 Mg²⁺ 浓度为 1.5 mM (根据

情况最高可调整到 3.5 mM)。

PCDR 扩增循环参数

循环数	温度	时间
1 st Cycle	95°C	2min
	95°C	10s
25-35 Cycles	50~60°C	10s
	72°C	1kb/min
Last Cycle	72°C	2min

(二) LAMP 扩增应用

10×HGamp Buffer1.2(Mg ²⁺ free)	2.5 μl
100mM Mg ²⁺	1.5 μl
HS Apta-SD2.0 Pol(10 U/μl)	1 μl
dNTP Mixture (10 mM each)	1.25 μl
10xLAMP Primer	2.5 μl
模板 DNA	x
ddH ₂ O	up to 25 μl

注意: (1) 10xLAMP Primer: 16 μM FIP/BIP; 4uM LPF/B; 2 μM F3/B3。(2) 在使用 SD 酶进行 LAMP 扩增时, 推荐的酶浓度为 0.4 U/μL。(3) 推荐的 Mg²⁺ 为 6 mM。

LAMP 扩增参数

变性后恒温扩增			
预变性	95°C	2min	可选
恒温扩增	70°C	30-60min	

注意:

(1) 在使用 SD 酶进行 LAMP 扩增时, 由于 SD 酶的耐热性远高于 Bst 系列的聚合酶, 因此允许在恒温扩增前, 采用高温 (95°C) 下的变性步骤。这一特性有助于粗样本的裂解, 更有效的释放核酸。

(2) 在恒温扩增阶段, 通常建议的反应温度为 70°C, 在 65°C 时扩增效率大幅下降。通常 SD 酶进行 LAMP 扩增时的速度和灵敏度低于 Bst 系列酶。