

描述: Bst 3.2 DNA Polymerase 经酶电子重构架和进化筛选 (*in silico* Design & *invitro* Evolution), 其为 Bst 3.0 的升级品, 用于 DNA 的 LAMP 扩增。

性能提升包括: (1) Bst 3.2 包含热启动 Aptamer, 该配体确保酶在 <30°C 时, 酶活封闭效率 >90%, 在 >60°C 时 1min 内完全释放酶活。该特性利于室温建立反应体系, 并大幅降低了低温条件下的非特异扩增; (2) 反应温度提升到 70°C, 大幅降低引物 Dimer 的形成, 提高扩增特异性, 并使得粗样品核酸释放更加充分; (3) 包含 Helicaser, 因此, 允许在不使用 F3/B3 引物的情况下进行 eLAMP 扩增 (easy LAMP), 并允许 FIP/BIP 的引物用量降低一倍。这将进一步降低非特异扩增, 并使得扩增均一性大幅提升。

名称	1600 U	16 KU
HotStart Bst 3.2 (16U/μl)	100 μl	1 ml
10xIso Buffer4.2 (Mg ²⁺ free)	1 ml	20 ml
100mM Mg ²⁺	1 ml	20 ml

注意: HotStart Bst 3.2 DNA Polymerase (16U/μl) 与 10xIso Buffer4.2 均不含有甘油, 可用于冻干体系的建立。

储存: 长期保存请置于 -20°C 以下 (18 个月有效); 制品反复冻融 10 次不影响性能, 但应避免反复冻融; 制品一经融化推荐置于 2-8°C 保存, 在此条件下制品稳定储存 1 个月。

其它说明:

(1) Bst 4.2 & 3.2 Polymerase 在用于 LAMP 扩增时的推荐反应温度为 70°C。由于 Helicaser 的反应温度为 70°C, 因此该酶在 65°C 扩增时, 性能会大幅下降。

(2) 制品中包含高浓度的盐组分, 使用时做好个人防护, 防止制品与皮肤、眼、鼻、呼吸道等接触和吸入, 一旦接触或吸入, 请用大量的清水冲洗。

(3) 防止气溶胶污染, 尽可能进行分区操作。

1. 10xLAMP Primer Mix 的配制

	标准 LAMP	eLAMP
FIP/BIP	16 μM each	8~16 μM each
LF/LB	4~8 μM each	4~8 μM each
F3/B3	2 μM each	非必须

注意: eLAMP (easy LAMP) 为去除 F3/B3 引物的方法, 为 Bst4.2-3.2 系列专用的使用策略, 对于大多数引物组, 在 Helicaser 的加持下, 扩增速度几乎不受影响。

2. 配制 LAMP 反应体系

10xIso Buffer4.2 (Mg ²⁺ free)	2.5 μl
100 mM Mg ²⁺	1.5 μl
dNTP Mixture (10 mM each)	3 μl
10xLAMP Primer Mix	2.5 μl
HotStart Bst 3.2 (16U/μl)	0.25-0.5 μl
模板 DNA	X μl
ddH ₂ O 到总体积	25 μl

注意: 关于 Bst 酶的用量, 对于绝大多数的 LAMP 扩增来讲, 0.16-0.32U/μl 的浓度, 均可获得理想的扩增结果, 必要条件下进行其它调整。

3. 扩增反应

反应体系配好后, 置于 70°C 反应 20~40min。