

SD DNA Polymerase

Cat. No.: A3203 Size: 250U Store at: -20°C



描述: SD 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 90°C 的高温(短暂耐受 92°C)。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 2kb/min、在 70°C 具有最佳活性。

SD DNA Polymerase 采用了 HaiGene 的电子重构架技术, 提高了该酶对乙醇、胍盐、肝素、血清、植物多糖多酚的耐受性。

组 分

SD DNA Polymerase (10 U/μl)	25 μl
5×SD Pol Buffer	1.25 ml×2
100mM Mg ²⁺	1 ml

储存: 置于-20°C 以下, 可保存 2 年。

注意: 1×SD Pol Buffer 中包含 2mM Mg²⁺、4%甘油及其它缓冲盐。

(一) PCDR 的扩增应用

5×SD Pol Buffer	5 μl
SD DNA Polymerase (10 U/μl)	0.05 μl
dNTP Mixture (10 mM each)	0.5 μl
Inner Primer each (10 μM)	0.25 μl
Out Primer each (10 μM)	0.25 μl
模板 DNA	x μl
ddH ₂ O	up to 25 μl

请注意: 在 PCDR 扩增时, SD Pol 酶的使用浓度为 0.02U/μL, 必要时可在 0.02-0.04U/μl 之间调整。

PCDR 扩增循环参数

循环数	温度	时间
1 st Cycle	92°C	30s
	90°C	10s
25-35 Cycles	50~60°C	10s
	70°C	2kb/min
Last Cycle	70°C	2min

注意: SD 酶的耐热性低于常规的 Taq 和 pfu pol, 该酶在 92°C 以上的温度会逐步失活, 因此在 PCDR 的扩增中, 第一步的预变性时间不超过 1min (推荐参数为 30s), 过长的时间会导致酶活大幅下降。

(二) LAMP 扩增应用

5×SD Pol Buffer	5 μl
100mM Mg ²⁺	1 μl
SD DNA Polymerase (10 U/μl)	1 μl
dNTP Mixture (10 mM each)	3 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; 4 μM 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 0.4U/μl, 通常可以在 0.2-0.8U/μl 之间调整。(3) 1×SD Pol Buffer 含 2 mM Mg²⁺, 在 LAMP 扩增中, 再额外补充 4 mM Mg²⁺。

LAMP 扩增参数

	变性后恒温扩增	恒温扩增
预变性	92°C 30s	无
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 (92°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, 必要时可在 65-72°C 间调整。