


Биолабмикс®

Общество с ограниченной ответственностью

«Биолабмикс»

ИНН 5408278957 КПП 540801001

630090, Новосибирская обл., г. Новосибирск,

ул. Инженерная, дом № 28

Tel/Fax: +7(383)363-51-91

E-mail: sales@biolabmix.ru

Bst ДНК-полимераза

Кат. номер E-10002, E-10010

Описание

Bst ДНК-полимераза (10 ед акт./мкл) является рекомбинантным белком – большим фрагментом ДНК-полимеразы *Bacillus stearotherophilus*. Фермент содержит гистидиновую метку на С-конце и имеет молекулярную массу 68,9 кДа. Фермент является высокопроцессивным, катализирует синтез ДНК в направлении 5'-3' и обладает высокой вытесняющей активностью. Bst ДНК-полимераза не обладает 5'-3' и 3'-5' экзонуклеазной активностью. Оптимальную активность фермент проявляет при 65 °С и pH 8,9.

Состав набора

Кат. №	Единиц активности, всего	Bst ДНК-полимераза (10 ед акт./мкл)
E-10002	2000	1 × 200 мкл
E-10010	10 000	1 × 1000 мкл

Активность полимеразы

Концентрация Bst ДНК-полимеразы – 10 ед. акт./мкл. Одна единица активности соответствует количеству фермента, необходимому для включения 10 нмоль dNTP в кислотонерастворимую фракцию ДНК за 30 мин при 65°С.

Буфер хранения полимеразы

50 мМ Трис-НСl, pH 8,0, 100 мМ NaCl, 5 мМ DTT, 1 мМ EDTA, 50% глицерин, 0,1% IGEPAL CA-630.

Область применения

- Петлевая изотермическая амплификация (LAMP);
- Полногеномное секвенирование.

Протокол выполнения LAMP

1. Предварительно разморозьте компоненты для ПЦР, перемешайте растворы, сбросьте капли кратким центрифугированием.
2. Смешайте индивидуальные компоненты в пробирке из расчета объема одной реакционной смеси 50 мкл:

Компонент	Объем	Конечная концентрация
10× LAMP-буфер *	5 мкл	1 ×
50 мМ MgSO ₄	3 мкл **	6 мМ** (4–10 мМ)
смесь dNTP (10 мМ каждого)	7 мкл	1,4 мМ
16 мкМ FIP/BIP праймеры	5 мкл	1,6 мкМ
2 мкМ F3/B3 праймеры	5 мкл	0,2 мкМ
8 мкМ LoopF/B праймеры	5 мкл	0,8 мкМ
Bst ДНК-полимераза, 10 ед. акт./мкл	0,2 мкл**	0,033 ед. акт./мкл** (0,008 – 0,2 ед. акт./мкл)
ДНК-матрица	переменный	> 10 копий на реакцию
Стерильная вода	До 50 мкл	

* 10× LAMP-буфер поставляется отдельно, например Кат. № SP030 (не содержит ионов магния).

** Рекомендуемые параметры

3. Осторожно перемешайте и сбросьте капли, используя центрифугу.
4. Для проведения амплификации можно использовать как специализированные амплификаторы для изотермической амплификации, так и амплификаторы для проведения ПЦР. Амплификацию рекомендуется проводить в интервале температур 60 – 65 °С в течении 30–40 минут. Для корректной интерпретации результатов рекомендуется всегда ставить контроль без матрицы.

Условия хранения

Хранить в месте, защищенном от попадания света:
при -20 °С – 12 месяцев;
не более 30 циклов замораживания-размораживания.

Условия транспортировки

Транспортируется в термоконтейнерах с охлаждающими элементами, допускается повышение температуры до температуры окружающей среды при транспортировке до 7 дней.