

3173 DNA 聚合酶说明书

描述:

3173 DNA Polymerase 为来源于病毒的热稳定型 DNA 聚合酶, 通过点突变修饰, 使其 3' -5' 外切活性缺失 (exo-形式) 而获得更佳的扩增活性。该酶除了具有依赖于 DNA 的聚合酶活性, 还具有依赖于 RNA 的逆转录活性, 因此可用于单管 RT-PCR 扩增。该酶具有强烈的链置换活性, 可用于 DNA 或 RNA 的等温扩增。在以 RNA 为模板的 LAMP 实验中, 可实现单酶系统反应。对于有复杂二级结构的 RNA 模板, 可通过 92 度加热 3s 来得到好的扩增效果, 而 Bst pol 在此温度加热后导致扩增活性丧失。

该酶搭配两种 Buffer: 10×3173 Isothermal Buffer 和 5×BestPCR Buffer。10×3173 Isothermal Buffer 用于恒温 PCR 扩增, 其反应温度不能超过 70° C。5×Best PCR Buffer 用于常规 PCR 扩增, 94° C 预变性时间不可超过 5min。

组分

名称	500U
3173 DNA Polymerase (5 U/μl)	100 μl
10×3173 Isothermal Buffer	1 ml
5×Best PCR Buffer	1 ml

单位定义:

一个活力单位即在 65° C 条件下, 30 分钟内催化 25nmol dNTP 的掺入反应成为酸不溶性物质所需的酶量。

储存: -20°C 可保存 3 年。

使用方法:

1. 以 DNA 为模板进行 PCR 扩增

3173 DNA Polymerase (5 U/μl)	1 μl
5×Best PCR Buffer	10 μl
dNTP Mixture (2.5 mM each)	4 μl
模板 DNA	1 ng~1 ug
上游引物 (10 μM)	5 μl
下游引物 (10 μM)	5 μl
ddH ₂ O	Up to 50 ul

PCR 扩增循环参数

循环数	温度	时间
1 st Cycle	90 °C	2min
25-40 Cycles	90 °C	15s
	Tm	15s
	72 °C	1kb/1min
Last Cycle	72 °C	5min

2. 以 RNA 为模板进行 RT-PCR 扩增

3173 DNA Polymerase (5 U/μl)	1 μl
5×Best PCR Buffer	10 μl
dNTP Mixture (10 mM each)	5 μl
RNA	10ng~1 ug
上游引物 (10 μM)	2 μl
下游引物 (10 μM)	2 μl
ddH ₂ O	Up to 50 ul

PCR 扩增循环参数

循环数	温度	时间
1 st Cycle	60 °C	60min
35 Cycles	90 °C	15s
	57 °C	15s
	72 °C	1kb/1min
Last Cycle	72 °C	5min

3. 缺刻恒温扩增

3173 DNA Polymerase (5 U/μl)	1 μl
10×3173 Isothermal Buffer	5 μl
dNTP Mixture (10 mM each)	5 μl
模板 DNA	1 ng~100 ng
Nt.BstNB1(10U/μl, NEB: R607)	1 μl
ddH ₂ O	Up to 50 ul

55 °C 孵育 2~8h。