

## Synta-Bst L ДНК-полимераза

### Описание

**Synta-Bst L ДНК-полимераза** – большой фрагмент ДНК-полимеразы *Bacillus stearothermophilus*. Обладает 5' → 3' полимеразной активностью, 5'→3' вытесняющей активностью. Не обладает 5' → 3' экзонуклеазной активностью. Не подходит для ПЦР. Используется в реакции «петлевой» изотермической амплификации нуклеиновых кислот в формате LAMP/RT-LAMP. Оптимальная температура работы – 65°C.

Выделена из штамма *Escherichia coli*, несущего ген ДНК-полимеразы *Bacillus stearothermophilus* без 5'→3' экзонуклеазного домена.

Артикул	Наименование	Состав, описание	Количество
ES00008	Synta-Bst L ДНК-полимераза, 8 000 ед./мл	Synta-Bst L, 8 000 ед./мл – 0,2 мл 5x LAMP-буфер – 2 x 1,25 мл	1 600 ед.
EM00008		Synta-Bst L, 8 000 ед./мл – 5 x 0,2 мл 5x LAMP-буфер – 10 x 1,25 мл	8 000 ед.
EB00008		Synta-Bst L, 8 000 ед./мл	Под заказ *

\* - минимальный объем заказа – 2 мл.

Артикул	Наименование	Состав, описание
EB10008	Synta-Bst L ДНК-полимераза	Synta-Bst L, концентрация по желанию заказчика в диапазоне 8 000 – 80 000 ед./мл

За одну единицу активности принимается количество фермента, необходимое для перевода 10 нмоль dNTP в кислото-нерастворимую фракцию за 30 минут при +65°C.

### Область применения

- Изотермическая амплификация нуклеиновых кислот методами LAMP и RT-LAMP.

### Буфер для хранения:

Состав: 10 мМ Трис-НСl (рН 7.1 при 25°C); 50 мМ КCl; 1 мМ ДТТ; 0.1 мМ ЭДТА; 0.1% Тритон X-100; 50% глицерин.

По желанию заказчика состав буфера для хранения Synta-Bst L ДНК-полимеразы может быть изменен.

При необходимости дальнейшей лиофилизации Synta-Bst L ДНК-полимераза может быть предоставлена в буфере, не содержащем глицерин.

При работе с Synta-Bst L ДНК-полимеразой в высокой концентрации для разведения фермента можно использовать Буфер для разведения 1 (артикул BS00007).

### Буфер для проведения реакции (1x LAMP-буфер):

Состав: 70 мМ Трис/НСl (рН 8.8 при 25°C); 20 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 5 мМ MgSO<sub>4</sub>; 0,01% твин-20; 0,1 мг/мл БСА; 8% глицерин.

По желанию заказчика Synta-Bst L ДНК-полимераза может быть укомплектована буфером по прописи заказчика или следующими реакционными буферами:

10x LAMP-буфер 1: 200 мМ Трис-НСl (рН 8.8 при 25°C); 100 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 500 мМ КСl; 20 мМ MgSO<sub>4</sub>; 1% твин-20.

10x LAMP-буфер 2: 200 мМ Трис-НСl (рН 8.8 при 25°C); 100 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 100 мМ КСl; 20 мМ MgSO<sub>4</sub>; 1% тритон X-100.

### **Термическая инактивация**

20 минут при 80°C.

### **Контроль качества**

#### *Неспецифическая экзодезоксирибонуклеазная активность*

Инкубация 16 ед. фермента с 1 мкг лямбда ДНК/Hind III при 37°C в течение 4 часов не приводит к видимой деградации фрагментов ДНК (по результатам агарозного гель-электрофореза).

#### *Неспецифическая эндодезоксирибонуклеазная активность*

Инкубация 16 ед. фермента с 0,6 мкг ДНК рBR322 при 37°C в течение 4 часов не приводит к видимому изменению электрофоретической подвижности ДНК (по результатам агарозного гель-электрофореза).

#### *Чистота препарата белка*

Чистота препарата белка составляет не менее 95% по результатам анализа методом ДСН-ПААГ с последующим окрашиванием Coomassie Brilliant Blue.

#### *Функциональное тестирование*

Аmplификация фрагментов ДНК с последующей детекцией продуктов реакции в режиме реального времени (с интеркалирующим красителем).

### **Условия хранения и транспортирования**

Температура хранения: от минус 24 С до минус 16 С.

Транспортировать в термоконтейнере с хладоэлементами, при температуре от 2 до 8 С не более 7 суток.

Срок хранения при соблюдении условий хранения и транспортировки – 24 месяца с момента производства.

---

### **Рекомендации по проведению амплификации LAMP и RT-LAMP**

1. Состав реакционной смеси для проведения амплификации в формате RT-LAMP (обратная транскрипция + амплификация):

Компонент	На 25 мкл реакции	Конечная концентрация
5-кратный LAMP-буфер (25 мМ MgSO <sub>4</sub> )	5 мкл	1-кратный (5 мМ MgSO <sub>4</sub> )
25 мМ смесь дНТФ	1 мкл	1 мМ каждого
100 мМ MgSO <sub>4</sub>	0,25 – 0,75 мкл	до 8 мМ MgSO <sub>4</sub>
FIP/BIP праймер, 10 мкМ	4 мкл	1,6 мкМ

F3/B3 праймер, 10 мкМ	0,5 мкл	0,2 мкМ
LoopF/B праймер, 10 мкМ	2 мкл	0,8 мкМ
Synta-Bst L ДНК-полимераза, 8 000 ед./мл	1 - 2 мкл	0,32 – 0,64 ед./мкл
Synta-RT L обратная транскриптаза, 300 000 ед./мл	1/3 мкл	4 ед./мкл
РНК / ДНК-матрица	X мкл	от 10 копий
Вода для ПЦР	До 25 мкл	---

- 5x LAMP-буфер представляет собой 5-кратный реакционный буфер, подходящий для амплификации методами LAMP и RT-LAMP. Стандартный 5-кратный LAMP-буфер содержит 25 мМ MgSO<sub>4</sub>, что соответствует 5 мМ MgSO<sub>4</sub> в реакционной смеси. При проведении RT-LAMP не рекомендуется дополнительно добавлять сульфат магния.
- Если требуется провести только реакцию амплификации ДНК, то обратную транскриптазу добавлять не следует. Рекомендуемая концентрация ионов Mg<sup>2+</sup> для амплификации ДНК методом LAMP – 5 - 8 мМ. При необходимости подбора концентрации ионов Mg<sup>2+</sup> в реакционной смеси можно дополнительно использовать 100 мМ раствор сульфата магния.
- При необходимости выполнения рутинных экспериментов рекомендуется приготовить 25-кратную смесь праймеров для LAMP: 40 мкМ FIP, 40 мкМ BIP, 5 мкМ F3, 5 мкМ B3, 10 мкМ LoopF, 10 мкМ LoopB (в воде или TE-буфере).
- Для визуализации результатов в реакционную смесь можно добавить интеркалирующий краситель SYBR Green I.
- Для минимизирования возможной ошибки пипетирования рекомендуется приготовить реакционную смесь, содержащую все компоненты, кроме РНК/ДНК-матрицы, в расчете на нужное количество реакций плюс одна. Внести в пробирки аликвоты реакционной смеси и затем добавить требуемое количество РНК/ДНК-матрицы.

### 2. Условия термоциклирования (LAMP и RT-LAMP):

Шаг	Температура, °С	Время	Количество циклов
Амплификация	60-65	30 сек	25-50