

Quick Guide

Beyond the PCR technology,
BIOFACT promises the progress for your research.



BioFACT™

Bst DNA Polymerase, Large Fragment

[Cat. No. BP101-16h, BP101-80h]

Contents	BP101-16h	BP101-80h
BioFACT™ <i>Bst</i> DNA Polymerase, Large Fragment (8 unit/ μ l)	1,600 units	8,000 units
10X <i>Bst</i> Reaction Buffer	0.5 ml x 1 ea	1.0 ml x 3 ea
Each 10 mM dNTP Mix	0.9 ml x 1 ea	0.9 ml x 5 ea

Description : BioFACT™ *Bst* DNA Polymerase, Large Fragment is the portion of the *Bacillus stearothermophilus* DNA Polymerase protein that contains the 5' → 3' polymerase activity, but lacks 5' → 3' exonuclease activity. *Bst* DNA polymerase, Large Fragment is prepared from an *E.coli* strain containing the *Bacillus stearothermophilus* DNA polymerase gene, lacking the 5' → 3' exonuclease domain.

Protocol [Typical LAMP Protocol]

1) Add following components for a single 25 μ l reaction.

PCR Mixture	Vol. 25 μ l	Final Conc.
DNA Template	X μ l	> 10 copies/rxn
10X <i>Bst</i> Reaction Buffer	2.5 μ l	1X
Each 10 mM dNTP Mix	4.5 μ l	each 1.8 mM
FIP/BIP Primer(25X)	1 μ l	1.6 μ M
Loop F/R Primer(25X)	1 μ l	0.2 μ M
F3/B3 Primer(25X)	1 μ l	0.4 μ M
<i>Bst</i> Polymerase, Large Fragment (8 unit/ μ l)	1 μ l	8 unit/rxn
Add D.W to		Adjust to final 25 μ l

2) Incubation the following at 65°C for 30 ~ 60 minutes.

Application :

- Loop-mediated isothermal amplification(LAMP)
- Whole genome amplification(WGA)
- Multiple displacement amplification(MDA)
- Ramification amplification(RAM)
- Random-primed DNA labeling

General Guidelines :

- ① A LAMP Primer Mix can be prepared with all 4 or 6(with Loop) primers.
A 25X Primer Mix should contain : 40 μ M FIP, 40 μ M BIP, 5 μ M F3, 5 μ M B3, 10 μ M LoopF, 10 μ M LoopR in TE or water.
- ② Reaction should be setup on ice.
- ③ Running a no-template control is strongly recommended to ensure amplification specificity.
- ④ If optimization is desired, try titrating *Bst* DNA Polymerase (0.04 ~ 0.32 unit/ μ l) or changing reaction temperature(50 ~ 68°C)

Quality Control :

- Purity : > 99% on SDS-PAGE
- Endonuclease-free
- Exonuclease-free
- RNase-free

Expiration Date : -20±5°C 보관 시 1년 6개월



Please contact us, if you have any question and need help.
T)1670-5695 www.bio-ft.com info@bio-ft.com

2022. 12. 19 (설명서 개정일)

주의사항.

본 제품은 실험 전 인력이 사용하도록 한다.

제품보증 및 책임사항

- 설명서에 나온 지침에 따라 제품을 사용하였을 경우에만 모든 제품의 결과를 보증한다.
- 실험자의 잘못된 사용이나 부주의로 인해 문제가 발생하였을 경우에는 교환이 되지 않는다.

안전경고 및 응급조치 요령

- 눈, 호흡기, 피부 접촉을 피한다.
- 눈에 들어갔을 때 : 흐르는 물로 눈을 씻을 것.
자극이 지속되면 의사의 진료를 받을 것.
- 피부에 접촉 시 : 접촉된 부위를 비누와 물로 충분히 씻을 것.
자극이 지속되면 의사의 진료를 받을 것.
- 동상의 위험이 있으니 반드시 장갑 착용 후 사용할 것.

사용자 유의사항

- 유효기한이 지난 제품의 사용을 금지한다.
- 냉동 제품을 자주 얼리고 녹이는 과정을 반복할 경우, 활성이 저하될 수 있으므로 주의한다.
- 필요한 경우, 일정량을 분주하여 보관, 사용하도록 한다.
- 조작성 정해진 순서에 따라 정확히 하여야 하며, 키트는 개봉 후 즉시 사용한다.
- 분리된 검체 DNA /RNA 상태에 따라 상이한 결과를 보일 수 있다.
- 오염된 검체는 부정확한 결과를 나타낼 수 있으므로 주의한다.

알림.

• Genomic DNA / Plasmid DNA / Total RNA는 사용하는 Primer의 종류에 따라 다양한 농도로 사용할 수 있다.

• NTC (Non-Template Control)을 이용하여 실험 환경내의 오염을 확인하도록 한다.

* 실험의 마지막 단계에서 적정량의 DNA template를 넣어준다.
NTC에는 template 대신 RNase / DNase free water를 넣어 Negative control로 사용한다.

(주)바이오팩트 제품 사용 시 먼저 check해 주세요.

dNTP 농도 Check : (주) 바이오팩트 dNTP Mix의 농도는 each 10mM 입니다.
Enzyme 농도 Check : Reaction Vol. 25 μ l 기준 1 μ l(8unit)을 사용합니다.

Troubleshooting Guide

RTase Activity

01. Reverse Transcriptase(RTase) 활성이 있습니까?
Bst DNA Polymerase, Large Fragment는 RTase 활성을 가지고 있으나, 역전사(Reverse Transcription) 실험에 사용하기에는 활성이 너무 낮아 적당하지 않습니다. 따라서 single enzyme RT/PCR polymerase 적용에 적합하지 않으며, RT-LAMP에 응용하시려면 전용 RTase를 사용하시길 바랍니다.

dUTP Incorporation

02. *Bst* DNA Polymerase, Large Fragment는 dUTP를 incorporation 할 수 있습니까?
Bst DNA Polymerase, Large Fragment는 dUTP를 incorporation 할 수 있으나, dTTP와 혼합 사용 시 dUTP의 함량을 50% 미만으로 사용할 것을 권장합니다.

Common Reaction Failure

03. *Bst* DNA Polymerase를 사용한 실험에 반응 실패의 주요 원인은 무엇입니까?
LAMP(Loop mediated isothermal amplification) 반응에 Primer Design 이 제대로 되지 않았을 경우 또는 70°C 이상에서 반응할 경우에는 효소 활성이 급격히 감소하는 경우가 있습니다.

Bst Inactivation Condition

04. *Bst* DNA Polymerase inactivation 조건은 무엇입니까?
80°C에서 10 min 동안 가열합니다.

