

## NEX LF-BST

### DNA polimerase de deslocamento de fita resistente ao calor

Quantidade 1.600 U; Concentração 8 U/ $\mu$ L; Código do produto: EB6-2



Validade 12 meses após a abertura ou o máximo de acordo com o COA.

Temperatura de transporte: -20 °C a 10 °C.

Temperatura de armazenamento: -20 °C.

### Descrição do produto

A **NEX LF-BST** é uma DNA polimerase termo resistente com propriedades de deslocamento de fita, que sintetiza uma nova fita de DNA enquanto dissocia a ligação de hidrogênio do DNA molde. Esta característica permite a replicação do DNA a uma temperatura constante (55 a 65 °C), pois a síntese não é inibida pela estrutura secundária do DNA. A **NEX LF-BST**, corresponde a fração inteira da polimerase de *Bacillus stearothermophilus* que contém a atividade 5'  $\rightarrow$  3', mas não possui atividade 5'  $\rightarrow$  3' de exonuclease. A **NEX LF-BST** é ideal para a amplificação isotérmica (LAMP), e para o rápido sequenciamento de nano quantidades de DNA com regiões de alto GC.

### Diretrizes para o uso da NEX LF-BST

**Tabela 1. Reagentes fornecidos**

Componente	Volume ( $\mu$ L)	Cor
<b>NEX LF-BST</b>	200	Azul
<b>Tampão isotérmico 10X</b>	1000	Vermelho
<b>MgSO<sub>4</sub> 50 mM</b>	1000	Verde

### Condições de reação básicas para PCR

O mix de primers para LAMP pode ser preparado com todos os 4 ou 6 (com Loop) primers. Uma mistura de primers 10X deve conter: 16  $\mu$ M FIP, 16  $\mu$ M BIP, 2  $\mu$ M F3, 2  $\mu$ M B3, 4  $\mu$ M Loop F, 4  $\mu$ M Loop B em TE ou água. A execução de um controle sem RNA/DNA molde é recomendada para garantir a especificidade da amplificação. Se necessária otimização, tente variar Mg<sup>2+</sup> (4 a 10 mM final) ou de **NEX LF-BST/NEX RTX**, ou alterar a temperatura de reação (50 a 68 °C). Cuidadosamente misture e centrifugue os tubos antes de abri-los. As reações de PCR devem ser preparadas em gelo. A **NEX LF-**

**BST** é viscosa e, portanto, deve ser pipetada cuidadosamente. De preferência, adicione a enzima por último na montagem das reações.

**Tabela 2. Protocolo para montagem da reação**

Componente	Volume 25 $\mu$ L	Conc. Final
<b>Tampão isotérmico 10X</b>	2,5 $\mu$ L	1X (2 mM MgSO <sub>4</sub> )
<b>MgSO<sub>4</sub> 50 mM</b>	3 $\mu$ L	6 mM (8 mM total)
<b>dNTP Mix (10 mM)</b>	3,5 $\mu$ L	1,4 mM
<b>Mix Primers 10X</b>	2,5 $\mu$ L	4,4 $\mu$ M
<b>NEX LF-BST</b>	1 $\mu$ L	320 U/mL
<b>NEX RTX</b>	0,5 $\mu$ L	2000 U/mL
<b>DNA molde</b>	X $\mu$ L	> 100 cópias
<b>H<sub>2</sub>O</b>	para 25 $\mu$ L	

1. Misture os reagentes acima;
2. Incubar a reação por 30 a 60 min a uma temperatura entre 60 e 68 °C;
3. Se necessário, inative a reação aquecendo-a a 80 °C por 10 min.

### Resolução de problemas

A amplificação isotérmica é uma técnica extremamente sensível e cuidados devem ser tomados para evitar a contaminação das áreas de instalação e equipamentos com DNA de reações anteriores. Um problema comum é a amplificação em controles negativos sem DNA molde por contaminação cruzada ou por amplificação de primers inespecíficos que formam dímeros. Geralmente é necessário estudar de 2 a 4 pares de primers para se escolher um par ideal. Aditivos de PCR como DMSO e betaína podem ser avaliados para melhorar as reações.

### Especificações

**Definição unitária:** Uma unidade é definida como a quantidade de enzima que irá incorporar 10 nmol de dNTP em material insolúvel em ácido em 30 min a 65 °C de acordo com calibração com enzimas previamente padronizadas.

**Tampão de armazenamento:** Tris-HCl; NaCl; EDTA; DTT; NP-40; Glicerol.

**Tampão isotérmico 10x:** Tris-HCl; KCl; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; MgSO<sub>4</sub>; estabilizadores e detergentes.

### Armazenamento e uso

Armazene todos os componentes a -20 °C. Descongele o buffer de reação à temperatura ambiente e armazene imediatamente após o uso.

### Controle de qualidade

Este produto passou pelos seguintes ensaios de controle de qualidade: análise de gel SDS-PAGE para pureza; ausência e atividades de ribonuclease; atividade em DNA genômico.

### Referências

Evolution of a Thermophilic Strand-Displacing Polymerase Using High-Temperature Isothermal Compartmentalized Self-Replication John N. Milligan, Raghav Shroff, Daniel J. Garry, and Andrew D. Ellington. *Biochemistry* 2018 57 (31), 4607-4619.

### Garantia

A *NexVitro Biologics* garante que seus produtos atendem às especificações indicadas na seção de dados técnicos. Substituiremos os produtos gratuitamente se não estiverem conforme as especificações. Esta substituição deve ser feita dentro do prazo de 60 dias após o recebimento. Em consideração aos compromissos acima referidos pela *NexVitro Biologics*, o comprador concorda e aceita as seguintes condições:

- Que esta garantia substitui todas as outras garantias, expressas ou implícitas;
- Que único recurso do comprador será para obter a substituição do produto de forma gratuita.

### Uso para a pesquisa

Estes produtos se destinam a fins de pesquisa por pessoas qualificadas.

### Aviso aos usuários

É de responsabilidade do usuário utilizar os produtos da *NexVitro Biologics* para determinar por si próprio a adequação de qualquer material e/ou procedimento para uma finalidade específica e que adote as precauções de segurança que possam ser necessárias.

**NEX LF-BST** é uma marca comercial da *NexVitro Biologics*.

Versão 8 (Fev/2024)