



BFo ADN polimerasa

Para amplificación isotérmica de ADN



PB-L
Productos
Bio-Lógicos®

Innovación y Desarrollo en Biotecnología

www.pb-l.com.ar

BFo ADN polimerasa

Cat. N.º EA23

Contenido	EA2301 (1600 U)	EA2302 (4000 U)	EA2303 (8000 U)
BFo ADN polimerasa (8 U/µl)	200 µl	500 µl	500 µl x2
Buffer 10×	500 µl	1,5 ml	1,5 ml x2
MgSO4 100 mM	300 µl	750 µl	750 µl
ddH ₂ O (RNasa free)	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml x2
Protocolo	1	1	1

Almacenamiento

El producto BFo ADN polimerasa puede ser almacenado a -20 °C durante 24 meses.

Aclaración

Este producto ha sido desarrollado para su uso exclusivo en investigación. No apto para uso in vitro en ensayos con animales o humanos.

Introducción

La BFo ADN polimerasa es una enzima termoestable aislada de organismos autóctonos del género *bacillus*. La misma fue modificada para optimizar su funcionamiento en reacciones de amplificación isotérmica de ADN. La característica más importante de esta enzima

es su alta actividad de desplazamiento de cadena $5' \rightarrow 3'$, la cual le permite desplazar una de las hebras del ADN molde para sintetizar una nueva cadena de ADN. En consecuencia, la reacción de polimerización puede realizarse a temperatura constante sin necesidad de desnaturalizar la doble hebra de ADN térmicamente.

La BFo ADN polimerasa esta purificada a partir de una cepa de *E. coli* recombinante mediante diferentes etapas cromatográficas que aseguran su pureza, calidad y la ausencia de trazas de Ácidos Nucleicos.

La BFo ADN polimerasa contiene actividad polimerasa $5' \rightarrow 3'$, carece de actividad exonucleasa $5' \rightarrow 3'$ y es capaz de incorporar dUTPs.

Su actividad óptima de polimerización se encuentra en el rango de 55-65 °C, mientras que es inactivada durante 20 min. a 80 °C.

La BFo ADN polimerasa presenta mayor resistencia a la presencia de moléculas intercalantes como SyBR Green, respecto a otras enzimas comerciales de características similares.

Aplicaciones

La enzima BFo ADN polimerasa es compatible con reacciones de amplificación isotérmicas como por ejemplo: *Loop mediated isothermal amplification* (LAMP), *Strand DNA Amplification* (SDA), *Whole Genome Amplification* (WGA) y otras aplicaciones que requieren de actividad de desplazamiento de cadena. Por otro lado, la BFo ADN polimerasa no es compatible con reacciones de PCR.

El revelado de este tipo de reacciones isotérmicas puede ser acoplado a diferentes métodos, como electroforesis en geles de

agarosa, fluorescencia, colorimetría, entre otros.

Protocolo

Condiciones de reacción estándar para LAMP

Reactivos	Volumen	Concentración
BFo DNA pol.	1-1,5 μ l	(8-12 U)
Buffer 10X	2 μ l	1X
MgSO ₄ 100 mM	X μ l	6-10 mM _f *1
Primers	X μ l	0,2-1,6 μ M _f
dNTPs 10 mM	3,5 μ l	1,4 mM _f
Molde	X μ l	1 pg-1 μ g
ddH ₂ O	X μ l	c.s.p. 20 μ l
ddH ₂ O	Hasta 20 μ l	

*1 Considerar que el buffer de reacción contiene 2 mM de MgSO₄, y que el mismo puede ser optimizado hasta 10 mM final. Para LAMP se recomienda utilizar 6-8 mM de MgSO₄ final.

*2 La concentración de los primers dependerá de la metodología de amplificación.

1. Mezclar mediante vortex. Realizar un spindown.
2. Incubar 60 min a 65°C. Calentar a 65 °C en baño térmico. **Nota:** Se recomienda utilizar equipo con tapa termostatizada.
3. **Nota: las condiciones de reacción pueden ser optimizados según los primers y el mode utilizado**

