

描述: Bst dU5.0 DNA 聚合酶是 HaiGene 于 2025 年底推出的创新酶。该酶融合了 Bst2.0(dUTP 掺入能力)、Bst3.0(快速扩增、抗杂质)、Bst4.2 (70°C 高温反应) 优势于一身, 与高性能的 Bst XT 等聚合酶相比, 该酶还可完全使用 dUTP(100%)来代替反应体系中的 dTTP。100%dUTP 的使用能力, 对于 LAMP 的防污染至关重要。除此外, 该酶不仅通用于 DNA 或 RNA 的 LAMP 扩增, 而且全系产品均为热启动版本。

性能特点: (1) Bst dU5.0 包含热启动 Aptamer, 其确保在 <30°C 时, 酶活封闭效率 >90%, 在 >60°C 时 1min 内完全释放酶活。该特性利于室温建立反应体系, 并大幅降低了低温条件下的非特异扩增; (2) 在 65-70°C 条件下, 均可有效进行 LAMP 扩增; (3) 相比于 Bst2.0 使用 dUTP 的使用比例仅 50% (这无法满足 LAMP 的防污染要求), Bst dU5.0 无需使用 dTTP, 可完全替换成 dUTP, 速度几乎无下降。在配合热敏 UDG 的条件下, 可有效的防止气溶胶引起的污染。

组分

名称	1600U	16KU
HS Bst dU5.0 Pol-GFree(16U/μl)	100 μl	1 ml
10×IsoAmp Buffer3(Mg ²⁺ free)	1.5 ml	15 ml
100mM Mg ²⁺	1ml	10 ml
10xGuHCl	1.5 ml	15 ml

注意: 热启动 Bst dU5.0 (16U/μl) 与 IsoAmp Buffer3 均不含甘油, 可用于冻干体系。10xGuHCl 浓度为 500mM。

单位定义: 一个活力单位即在 65°C 条件下, 30 分钟内催化 10nmol dNTP 的掺入反应成为酸不溶性物质所需的酶量。

储存: 长期保存请置于 -20°C 以下 (2 年有效); 制品反复冻融 20 次不影响性能。

其它辅助试剂

HaiGene 货号	产品名称
	dU/VTP Mixture (25mM each)
A0303	含 25mM each of
	dUTP/dATP/dCTP/dGTP
C5029B	南极热敏 UDG(20 U/μl)

典型的 LAMP 反应

1. 10xLAMP Primer Mix 的配制

	10xPrimer Mix	1x 下浓度
FIP/BIP	10-16 μM each	1-1.6 μM each
LF/LB	4-8 μM each	0.4-0.8 μM each
F3/B3	2 μM each	0.2 μM each

2. 配制 LAMP 反应体系

*HS Bst dU5.0 Pol-GFree (16U/μl)	0.5 μl	0.32U/μl
10×IsoAmp Buffer2(Mg ²⁺ free)	2.5 μl	1x
dU/VTP Mixture(25mM each)	1 μl	1mM
100 mM Mg ²⁺	1.5 μl	6mM
10X Primers	2.5 μl	
模板 DNA/RNA	10ng	
ddH ₂ O Up to	25 μl	

注意: 对于绝大多数的 LAMP 扩增来讲, 0.16-0.32U/μl 的浓度, 均可获得理想的扩增结果, 必要条件下进行其它调整。

3. 扩增反应: 置于 65~70°C 反应 20~40min (优选 70 度)。

使用注意事项:

(1) Mg²⁺ 的使用浓度为 4~10 mM 浓度, IsoBuffer 中没有 Mg²⁺, 通常情况下, 在 6-8 mM Mg²⁺ 条件下可获得较好的 LAMP 结果。

(2) Bst dU5.0 可以使用 dNTP 或 dU/VTP, 推荐的使用浓度为 1mM each, 必要条件下可在 0.5~1.25mM 间调整。

(3) 未知的原因, 在反应体系中加入 50mM GuHCl, 对多数引物来讲, 可加速 LAMP 扩增 3~5min, 并提高 LAMP 检测灵敏度。但这不是绝对的, 有些引物组具有相反的效应。通常情况下在 70 度反应时, GuHCl 增强扩增效应显著。

(4) 在防污染的实验中, 建议的热敏 UDG 的使用浓度 1x 下为 10mU/μl。体系配制完毕后, 室温放置 2~5min 消化 dU 污染物, 再上机检测。由于 UDG 在 65-70°C 条件下需要 2~3min 失活, 因此加入 UDG 后, 通常反应时间会推迟 2~3min。对于产物中 AT 含量较高的实验, 通常可有效消除 100cps/μl 的污染物, 而 GC 含量较高时消除能力可能会下降到 10cps/μl。由于 Oligo 区均为 dNTP 合成产物, 所以该区域的污染或 Dimer 产物均不能消除。无论如何, 存在污染物的情况下, 加入 UDG 后通常可延缓污染反应 8~12min, 这已经满足终点参数的判读设置。