

描述: 该制品为 Bst dU5.0 LAMP 冻干瓶形式的预混试剂, 利于运输和存储。冻干品中包含反应 Buffer、dU/VTP(不含 dTTP)、Mg²⁺、HotStart Bst dU5.0 聚合酶、耐热逆转录酶 Max65 RTase、海藻糖、甘露醇等冻干赋形剂。通用于 DNA 或 RNA 的靶标检测。

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 渗入能力)、Bst3.0(快速扩增、抗杂质)、Bst4.2 (70°C 高温反应) 优势于一身。与其它高性能的 LAMP DNA 聚合酶相比, 该酶最大特点为可完全使用 dUTP(100%)来代替反应体系中的 dTTP。

制品性能: (1) 制品中的 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) dTTP 被完全替换成 dUTP, 反应速度变化不明显。在配合热敏 UDG 的条件下, 可有效的防止气溶胶引起的污染。

本品为多用途的试剂, 适用于 LAMP 进行 SYBR Green、Molecular Beacon 探针、DP-LAMP 探针等应用。

组分

名 称	2ml (100Tx20μl)	10ml (500Tx20μl)
Basic Lyo-Bst dU5.0 LAMP Mix	1 瓶	1 瓶 x5
HGStoreBuffer5	1 ml	1 ml x5
1M GuHCl	1.5 ml	1.5 ml

储存与运输:

- (1)核心扩增试剂为冻干品形态, 未开封状态下[-15°C以下(效期 36 个月)];
- (2)冻干品使用 HGStoreBuffer5 溶解后[-15°C以下(效期 6 个月)];
- (3) 冻干品使用 ddH₂O 溶解后[-15°C以下(效期 2 个月)], [-60°C以下(效期 12 个月)]。
- (4)运输条件: 室温(<37°C), 28 天以内。收到货物后-15°C以下保存。

使用前事项:

- (1) 用于冻干品的溶解液(HGStoreBuffer5): 10 mM Tris-HCl, pH7.5, 1 mM DTT, 5% Glycerol, 0.1% Tween20。除此外, 也可使用 5%甘油或 ddH₂O 溶解酶制品。
- (2) Basic Lyo-Bst dU5.0 LAMP Mix 的溶解: 每瓶冻干品试剂, 为 2 ml 的总反应体积, 满足 100 次 20μl 的 LAMP 扩增反应。每瓶试剂用 900 μl 的 HGStoreBuffer5 溶解, 总体积为 1000 μl (冻干品溶解后, 实际体积约 100 μl)。此时, 试剂为 2x 浓度 Mix。
- (3) 关于 RT-LAMP, 该制品中包含了耐热逆转录酶 Max65 RTase, 可直接用于 RNA 的 RT-LAMP 反应。
- (4) dUTP 比例: 制品中不含 dTTP, 100%dUTP。

(5) 未知的原因, 在反应体系中加入 50 mM 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。

(6) 制品中不含热酶 UDG 酶, 在防污染的实验中, 热敏 UDG 使用浓度 1x 下 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 度条件下需要 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。

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

2xBst dU5.0 Mix	10 μl
1 M GuHCl	1 μl
10X Primers	2 μl
模板 DNA/RNA	10 ng
ddH ₂ O Up to	20 μl

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