

描述: 该制品中包含反应 Buffer、dU/VTP(不含 dTTP)、Mg²⁺、HotStart Bst dU5.0 聚合酶、耐热逆转录酶 Max65 RTase、热敏 UDG 酶、荧光染料(与 FAM 和 SYBR Green 使用同荧光通道)、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, 速度几乎无下降。(4) 制品包含热敏 UDG, 可有效的防止气溶胶引起的污染。

组分

名 称	96Tx20μl	480Tx20μl
Fluo Bst dU5.0 LAMP Bead(with UDG)	96 个/瓶	96 个/瓶 x5
1 M 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)开瓶后[-15°C以下(效期 12 个月)];
- (3)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) 每球含有 6.4U 的 Bst dU5.0 聚合酶, 40U 的 Max65 RTase, 200mU 的热敏 UDG 酶, dA/C/G/UTP(不含 dTTP)。
- (2) 每球的反应体积为 20 μl, 直径 2.4mm。其它体积和规格的冻干球, 可从 HaiGene 订制。
- (3) 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。
- (4) 制品中包含热酶 UDG 酶, 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, 因此与不含 UDG 的试剂相比, 通常反应时间会推迟。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

Bst dU5.0 Bead	1 个
1M 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: 体系配制完毕后, 室温放置 2~5min, 以消除污染物。再置于 65~70°C(优选 70°C)反应 20~40min, 30s 收集一次荧光信号 (Ex/Em=480/520)。