

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 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 |
| 10xIsoAmp Buffer3(Mg ²⁺ free) | 1.5 ml | 15 ml |
| 100 mM Mg ²⁺ | 1 ml | 10 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。

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 |
| A0303 | dU/VTP Mixture (25 mM each) 含 25 mM 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 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 dU5.0Pol-GFee(16U/μl) | 0.5 μl | 0.32U/μl |
| 10xIsoAmp Buffer2(Mg ²⁺ free) | 2.5 μl | 1x |
| dU/VTP Mixture(25mM each) | 1 μl | 1 mM |
| 100 mM Mg ²⁺ | 1.5 μl | 6 mM |
| 10X Primers | 2.5 μl | |
| 模板 DNA/RNA | 10 ng | |
| ddH2O 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。

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 1 mM each, 必要条件下可在 0.5~ 1.25 mM 间调整。
- (3) 未知的原因, 在反应体系中加入 30~50 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) 在防污染的实验中, 建议的热敏 UDG 的使用浓度 1x 下为 2~4 mU/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。

注意: 本产品仅供研究用, 请勿用于人体及动物的治疗、临床诊断或作为食品、化妆品、家庭用品的添加剂等用途。