

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
10×IsoAmp 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
	dU/VTP Mixture (25 mM each)
A0303	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 dU5.0 Pol-GFee(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	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。