

**描述:** 该制品是 5x 浓度的全预混可冻干试剂, 内含反应 Buffer、dNTP、Mg<sup>2+</sup>、HotStart Bst4.0 聚合酶及稳定剂。是 HaiGene 精心研制的高性能的 LAMP 扩增用试剂, 通用于 DNA 或 RNA 的靶标检测。在 Bst4.0 快速、高耐受性的基础上, 不仅实现稳定、快速、高灵敏度的扩增性能, 在 HotStart 性能的加持下, 还实现了假阳性的大幅下降。

5xLyoMix 不含甘油, 在配合 HaiGene 研制的 Q10 球型冻干赋形剂(货号:S2012)后, 可轻松制备含扩增引物的冻干球。这种组合设计便于研究、开发、生产于一体流程化操作, 并兼具一定的灵活性, 减少了试剂开发和固定化生产的难度。

**制品性能:** HotStart Bst 4.0 包含热启动 Aptamer, 该配体确保酶在<30°C 时, 酶活封闭效率>90%, 在>60°C 时 1min 内完全释放酶活。该特性不仅利于室温建立反应体系, 而且允许加入引物后的冻干体系建立。本品为多用途的试剂, 适用于 LAMP 进行 SYBR Green、Molecular Beacon 探针、DP-LAMP 探针等检测。

#### 组分

名称	100Tx25µl	500Tx25µl
5xHS Bst4.0 LyoMix	500 µl	1.25 mlx2
75xSYBR Green Dye	30 µl	150 µl
10xGuHCl	1.5 ml	1.5 ml

#### 注意事项:

- (1) 长期保存请置于-20°C 以下 (24 个月有效); 制品反复冻融 10 次不影响性能, 但应避免反复冻融; 短期推荐置于 2-8°C 保存, 在此条件下制品稳定储存 1 周。
- (2) 1xHS Bst4.0 Mix 中, 包含 0.25 U/µl 的 HotStart Bst4.0 必要时可单独补充。
- (3) 10xGuHCl 为 500 mM, 1x 下 50 mM 的 GuHCl 能显著加速 LAMP 扩增约 3~4min。必要时还可以作为样本的裂解液。
- (4) SYBR Green 染料对光敏感、易于失效, 注意避光保存, 使用的终浓度为 0.75x。该试剂为非必须试剂, 在进行试纸条、探针、变色、浊度等实验时无需加入。

#### 使用方法

1. 用于常规科研检测和冻干前的研究实验

##### 1.1 25xLAMP Primer Mix 的准备

	25x	1x
FIP/BIP	25-40 µM each	1-1.6 µM each
LF/LB	10~20 µM each	0.4~0.8 µM each
F3/B3	5 µM each	0.2 µM each

注意: 在常规的测试中 (非冻干生产), 无需制备 25x 浓度的引物, 10x 浓度的引物足以满足冻干前地研究实验。

##### 1.2 配制 LAMP 反应体系

5xHS Bst4.0 LyoMix	5 µl	
25xLAMP Primer Mix	1 µl	
75xSYBR Green Dye	0.25 µl	非必须
10xGuHCl	2.5 µl	
模板 DNA/RNA	10 ng	
ddH <sub>2</sub> O Up to	25 µl	

##### 1.3 扩增反应

置于 65°C 恒温反应 20~40min (1min 收集一次荧光信号)。

#### 2. 冻干球的制备

5xHS Bst4.0 LyoMix	5 µl	
3xQ10 Freeze-Dry Bulks	3.33 µl	货号: S2012
25xLAMP Primer Mix	1 µl	
75xSYBR Green Dye	0.25 µl	荧光(非必须)
ddH <sub>2</sub> O Up to	10 µl	

该试剂冻干体系 10 µl, 扩增反应体积 25 µl, 球直径约 2.6mm。

#### 3. 冻干程序(不同的冻干机有差异, 仅供参考)

制球完毕后, -50°C 预冻 5-10min; -50°C 4-8h (真空段); -50°C 升温到 30°C (每小时升温 5°C); 30°C 6-10h。

#### 4. 冻干品的使用

向冻干品中加入 20~22.5 µl 的 ddH<sub>2</sub>O, 2.5µl 的 10xGuHCl 后, 即可与液体试剂相同的操作方法进行扩增反应。

#### 特别说明:

- (1) 在液体试剂配制完毕后, 建议 1h 内完成制球或分装。
- (2) GuHCl 具有强腐蚀性, 不建议冻干入球, 推荐采用 250 mM 或 500 mM 的 GuHCl 来裂解、变性样本后, 一起加入反应体积 (5 µl 或 2.5 µl)。
- (3) 防止气溶胶污染, 尽可能进行分区操作。