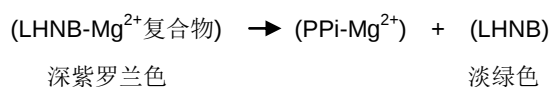


描述: 该制品为全体系冻干微球制品, 包含了 HotStart Bst4.2 DNA/RNA 聚合酶、Helicaser、dNTP、 Mg^{2+} 、反应缓冲、LHNB 变色指示剂(Leuco-HNB, 隐色 HNB 染料), 其它稳定剂。

Bst4.2 具有以下性能: (1) Bst4.2 包含热启动 Aptamer, 该配体确保酶在 $<30^{\circ}C$ 时, 酶活封闭效率 $>95\%$, 在 $>60^{\circ}C$ 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) 反应温度提升到 $70^{\circ}C$, 大幅降低引物 Dimer 的形成, 提高扩增特异性, 并使得粗样品核酸释放更加充分; (3) 包含 Helicaser, 因此, 允许在不使用 F3/B3 引物的情况下进行 eLAMP 扩增 (easy LAMP), 并允许 FIP/BIP 的引物用量降低一倍。这将进一步降低非特异扩增, 并使得扩增均一性大幅提升。

制品中的 LHNB 染料在反应起始前与 Mg^{2+} 结合产生深紫罗兰色, 随着 LAMP 反应的进行, 产生的 PPi (无机焦磷酸盐) 结合体系中的 Mg^{2+} , 使得 L-HNB 显示出淡绿色。



组分

名 称	96Tx25 μ l
HS Bst 4.2 LHNB Bead	96 个
10xGuHCl	1.5ml

注意事项:

(1) $-20^{\circ}C$ 以下干燥密封保存 (24 个月有效); 室温干燥密封保存 (6 个月有效)。由于制品为冻干形态, 极易吸潮, 在制品开封后, 推荐放置 $-20^{\circ}C$ 以下保存 12 个月。

(2) 10xGuHCl 为 500 mM, 1x 下 50 mM 的 GuHCl 能显著加速 LAMP 扩增约 3~4min。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 μ l 或 2.5 μ l)。

(3) 本制品在 1x 浓度情况下, 对如下试剂的耐受度, Tris-HCl (pH8.8) ≤ 1 mM; NaOH ≤ 1 mM; Tween20% $\leq 1\%$; EDTA(pH8.0) ≤ 20 μ M; 肝素 ≤ 0.5 IU/ml。

(4) LHNB 是还原状态下的染料, 任何强氧化剂 (H_2O_2 、次氯酸钠等) 均会破坏 L-HNB 的结构, 从而直接导致试剂变为深蓝绿色。

(5) 冻干球直径约 2.6mm。

(6) 防止气溶胶污染, 尽可能进行分区操作。

使用方法

1. 10xLAMP Primer Mix 的配制

	10x 标准 LAMP	10xeLAMP	1x
FIP/BIP	10-16 μ M each	10-16 μ M each	1-1.6 μ M each
LF/LB	4-8 μ M each	4-8 μ M each	0.4-0.8 μ M each
F3/B3	2 μ M each	非必须	0.2 μ M each

注意: eLAMP (easy LAMP) 为去除 F3/B3 引物的方法, 为 Bst4.2-3.2 系列专用的使用策略, 对于大多数引物组, 在 Helicaser 的加持下, 扩增速度几乎不受影响。

2. 配制 LAMP 反应体系

HS Bst 4.2 LHNB Bead	1 个
10xLAMP Primer Mix	2.5 μ l
10xGuHCl	2.5 μ l
模板 DNA/RNA	10 ng
ddH ₂ O Up to	25 μ l

3. 反应体系配好后, 置于 $70^{\circ}C$ 反应 25~45min, 反应完毕后观察颜色, 紫色为阴性, 绿色为阳性扩增。