

**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、SYBR Green、Mg<sup>2+</sup>、反应缓冲盐、冻干赋形剂, 单球扩增体系为 25 $\mu$ l。

Bst4.2 具有以下性能:(1)Bst 4.2 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°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。

本品内含 SYBR Green 染料适用于在定量 PCR 仪或恒温荧光仪上进行 LAMP 扩增。

#### 组分

名称	96Tx25 $\mu$ l
HS Bst 4.2 SYBR Green Bead	96 个
10xGuHCl	1.5ml

#### 注意事项:

(1) -20°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 度以下保存 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  $\mu$ l 或 2.5  $\mu$ l)。

(3) Bst 4.2 在用于 LAMP 扩增时的推荐反应温度为 70°C。由于 Helicaser 的反应温度为 70°C, 因此该酶在 65°C 扩增时, 性能会大幅下降。

(4) 冻干球直径约 2.6mm。

(5) 防止气溶胶污染, 尽可能进行分区操作。

#### 使用方法

##### 1. 10xLAMP Primer Mix 的准备

	10x 标准 LAMP	10xeLAMP	1x
FIP/BIP	10-16 $\mu$ M each	10-16 $\mu$ M each	1-1.6 $\mu$ M each
LF/LB	4~8 $\mu$ M each	4~8 $\mu$ M each	0.4~0.8 $\mu$ M each
F3/B3	2 $\mu$ M each	非必须	0.2 $\mu$ 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 SYBR Green Bead	1 个
10xLAMP Primer Mix	2.5 $\mu$ l
10xGuHCl	2.5 $\mu$ l
模板 DNA/RNA	10 ng
ddH <sub>2</sub> O Up to	25 $\mu$ l

3. 反应体系配好后, 置于 70°C 恒温反应 20~40min (1min 收集一次荧光信号)。