

**描述:** 该制品中包含反应 Buffer、dNTP、Mg<sup>2+</sup>、HotStart Bst4.2 聚合酶、耐热逆转录酶 Max65 RTase、荧光染料(与 FAM 和 SYBR Green 使用同荧光通道)、冻干赋形剂, 通用于 DNA 或 RNA 的靶标检测。

Bst4.2 DNA 聚合酶经酶电子重构架和进化筛选 (in silico Design & invitro Evolution), 作为 Bst3.0 的升级产品, 该酶维持了 3.0 的快速扩增能力, 并将耐热温度提高了 5°C, 允许在 70°C 进行 LAMP 扩增。

性能特点: (1) Bst4.2 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) 使用该酶进行 LAMP 扩增, 允许不使用 F3/B3 引物, 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。

## 组分

| 名 称                   | 96Tx20μl | 480Tx20μl |
|-----------------------|----------|-----------|
| Fluo Bst4.2 LAMP Bead | 96 个/瓶   | 96 个/瓶 x5 |
| 1 M GuHCl             | 1.5 ml   | 1.5 ml    |

## 储存与运输:

- (1)核心扩增试剂为冻干品形态, 未开封状态下[-15°C 以下(效期 36 个月)];
- (2)开瓶后[-15°C 以下(效期 12 个月)];
- (3)运输条件: 室温(<37°C), 28 天以内。收到货物后-15°C 以下保存。

## 使用前事项:

- (1) 每球含有 6.4U 的 Bst4.2 聚合酶, 40U 的 Max65 RTase。
- (2) 每球的反应体积为 20 μl, 直径 2.4mm。其它体积和规格的冻干球, 可从 HaiGene 订制。
- (3) 未知的原因, 在反应体系中加入 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) 关于 RT-LAMP, 该制品中包含了耐热逆转录酶 Max65 RTase, 可直接用于 RNA 的 RT-LAMP 反应。
- (5) Bst4.2 DNA 聚合酶在用于 LAMP 扩增时的推荐反应温度为 70°C。该酶在 65°C 扩增时, 性能会大幅下降。

## 典型的 LAMP 反应

### 1. 10xLAMP Primer Mix 的配制

|         | 标准 LAMP     | eLAMP        |
|---------|-------------|--------------|
| FIP/BIP | 16 μM each  | 8~16 μM each |
| LF/LB   | 4~8 μM each | 4~8 μM each  |
| F3/B3   | 2 μM each   | 非必须          |

注意: eLAMP(easy LAMP)为去除 F3/B3 引物的方法, 为 Bst4.2 系列专用的使用策略, 对于大多数引物组, 扩增速度变化不明显。

### 2. 配制 LAMP 反应体系

|                          |       |
|--------------------------|-------|
| Bst4.2 Bead              | 1 个   |
| 1 M GuHCl                | 1 μl  |
| 10X Primers              | 2 μl  |
| 模板 DNA/RNA               | 10 ng |
| ddH <sub>2</sub> O Up to | 20 μl |

3. 扩增反应: 置于 70°C 反应, 20~40min, 30s 收集一次信号 (Ex/Em=480/520)。