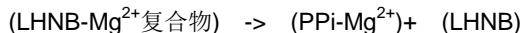


描述: 该制品 5x 浓度的全预混液, 不含甘油, 可用于研发冻干制品。预混液包含反应 Buffer、dNTP、Mg²⁺、HotStart Bst4.2 聚合酶、海藻糖、甘露醇等稳定剂。该制品是 HaiGene 精心研制的高性能的 LAMP 扩增用试剂, 通用于 DNA 或 RNA 的靶标检测。

制品性能: (1) HotStart 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。(4) 该制品不含甘油, 因此, 无论是科研或生产, 均可以依次试剂为基础进行冻干制品研发。便于研究、开发、生产于一体流程化操作。

制品中的 LHN B 染料在反应起始前与 Mg²⁺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 Mg²⁺, 使得 L-HNB 显示出淡绿色。



深紫罗兰色 淡绿色

组分

名 称	100T x 20μl	500T x 20μl
5xBst 4.2 Basic Mix	400 μl	400 μl x5
50xLHN B Dye	45 μl	225 μl
10xGuHCl	1.5ml	1.5ml

注意事项:

(1) 长期保存请置于-20°C 以下 (24 个月有效); 通常在室温 28°C 条件下 3~5min 即可融化, 反复冻融 20 次不影响性能。

(2) 1xBst 4.2 Mix 含有 1%海藻糖, 1.5%甘露醇, 0.32U/μl 的 HotStart Bst 4.2 聚合酶。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。

(3) 本制品在 1x 浓度情况下, 对如下试剂的耐受度, Tris-HCl(pH8.8) ≤ 10 mM; NaOH ≤ 1 mM; Tween20% ≤ 1%; EDTA(pH8.0) ≤ 20 μM; 肝素 ≤ 0.5 IU/ml。

(4) LHN B 是还原状态下的染料, 任何强氧化剂 (H₂O₂、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绿色。

(5) 50xLHN B 为紫绿变色染料。如需要红黄变色体系, 可联系 HaiGene, 索取更换为 50xRed Dye。

使用方法

1. 10xLAMP Primer Mix 的准备

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

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, 在 Helicaser 的加持下, 扩增速度几乎不受影响。

2. 配制 LAMP 反应体系

5xBst 4.2 Basic Mix	4 μl
50xLHN B Dye	0.4 μl
10xLAMP Primer Mix	2 μl
10xGuHCl	2 μl
模板 DNA/RNA	10 ng
ddH ₂ O Up to	20 μl

3 扩增反应

反应体系配好后, 置于 70°C 反应 20~40min。阳性为淡绿色, 阴性为紫罗兰色。

特别说明:

(1) 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。

(2) 该制品不具有防污染功能, 因此, 尽可能进行分区操作, 防止气溶胶污染工作环境。如需要防污染功能, 可转向 Bst dU5.0 系列产品。

(3) Bst4.2 最佳反应温度为 70°C, 在 65°C 条件下反应速度会下降 25%。