

## Bst 4.0 Basic Bead

Cat. No.: A3828-02 Size:100T(25  $\mu$ l) Store at:-20 $^{\circ}$ C



**描述:** 该制品为全体系冻干微球制品, 内含恒温扩增所用的反应缓冲液、Mg<sup>2+</sup>、dNTP、Bst 4.0 DNA/RNA 聚合酶等, 其不包含任何染料, 使用时只需要加入引物、模板即可进行核酸恒温扩增。Bst 4.0 DNA/RNA 聚合酶具有依赖于 RNA 模板的聚合酶活性 (逆转录), 还具有依赖于 DNA 的聚合酶活性, 因此无论 DNA 或 RNA 样本均可使用该制品进行恒温扩增。该制品是进行 LAMP 及 RT-LAMP 扩增反应的绝佳试剂。

本制品不包含任何显色染料, 可自行搭配相关染料或检测手段进行 LAMP 反应, 包括搭配 OG 染料管进行橙绿变色、搭配标记 Oligo 进行试纸条检测、搭配荧光染料进行荧光检测、搭配 Molecular Beacon 探针进行荧光检测等方法。

货号	名称	规格
A3828-02	Bst4.0 Basic Bead	100 个

**储存:** -20 $^{\circ}$ C 保存 2 年; 室温 (25 $^{\circ}$ C) 保存 >6 个月。

**使用方法: (进行 LAMP 橙绿变色扩增):**

1. 关于 OG 橙绿变色管(货号: A3828-21)说明: 橙绿变色染料(OG Dye)以烘干的形式预加在 8 联管盖上。LAMP 反应完毕后, 将 0.2ml EP 管颠倒溶解 OG 染料后。LAMP 的反应产物将与 OG 染料形成绿色肉眼可见变色反应(阳性), 而未扩增的 EP 管为深橙色(阴性)。本试剂管常温长期保存。

2. 配制变色 LAMP 反应体系

在 OG 染料管 (0.2ml EP) 反应管中加入下述试剂

Bst4.0 Basic Bead	1 粒
10xLAMP Primer Mix	2.5 $\mu$ l
模板 DNA/RNA	X $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O 到总体积	25 $\mu$ l

10xLAMP Primer Mix 浓度: FIP/BIP 分别为 16  $\mu$ M、LoopF/B 分别为 4~8  $\mu$ M、F3/B3 分别为 2  $\mu$ M。

**注意:** 全部试剂加入完毕后, 轻弹 EP 管底部后, 再盖上 OG 橙绿变色管 (盖上管盖后务必不能再剧烈混合与倒置, 以防止将管盖上的 OG 染料溶解, OG 染料一旦混入反应液中将会终止 LAMP 反应)。

3. 反应体系配好后, 置于 65 $^{\circ}$ C 进行反应 15~30min。(扩增良好的引物组合, 通常 20min 即可变色, 一般不超过 30min)。

4. 观察结果: 反应结束后, 从加热装置中将反应管取出, 室温 2min, 使整个反应管冷却下来。再次用力将反应管盖压紧, 以防止液体泄露。将反应 EP 管倒置, 并手腕轻甩, 反应液浸泡 EP 管盖上的 OG 染料, 静置 1min (中间可轻弹 1-2 次, 以加速溶解 OG 染料)。再将 EP 反应管正置, 并轻甩反应液到 EP 管底部, 此时扩增样品将变为鲜艳肉眼可见绿色, 而阴性未发生扩增的管将为深橙色。

**注意:** (1) 观察结果时, 尽可能不要与配制反应空间共用, 以防止污染操作台。(2) 尽管 HaiGene 选取的为高密封性的 EP 管, 但也时有 EP 管发生液体泄露。在反应管倒置时, 可用纸巾包裹 EP 管, 一旦发生泄露, 丢弃纸巾, 防止台面污染。(3) 整个操作过程, 佩戴手套、口罩等个人防护用品。

**注意事项:**

(1) 关于矿物油的使用, 在配制完 LAMP 反应体系后, 可加入一滴矿物油覆盖于反应液上部, 以减少气溶胶的污染。矿物油并不影响 OG 染料的溶解。

(2) 在使用其它荧光染料时, 使用浓度可自行优化, 通常来讲, 参考供应商提供浓度的 0.25~0.8x, 过高浓度的染料可能导致扩增失败。

(3) 本试剂不支持, 浊度、pH 变色、HNB 变色反应, 请勿尝试。

(4) 关于 LAMP 成品试剂的建议, Bst 4.0 Basic Bead 冻干球和 OG 橙绿变色管均为室温稳定状态, 可长期保存。将扩增引物加入到 OG 橙绿变色管底部, 于 70 $^{\circ}$ C 烘干, 再加入一粒冻干球即可制备成全体系检测试剂。