

Bst 4.0 LowSalt Bead

Cat. No.: A3828-01 Size:100T(25 μ 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低缓冲盐 (Low Salt)、 Mg^{2+} 、dNTP、Bst 4.0 DNA/RNA 聚合酶等。由于 LAMP 在反应时会产生大量的 H^+ , 导致反应体系 pH 下降, 因此, 低缓冲盐体系条件下, 可搭配 pH 敏感染料实现可视化检测 LAMP 检测。该制品中包含低浓度的 Tris (pH8.8) 缓冲盐。

| 货号 | 名称 | 规格 |
|----------|-----------------|-------|
| A3828-01 | Bst 4.0 LS Bead | 100 个 |

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

使用实例 (以 LAMP 红黄变色扩增为例):

1. 搭配使用红色 pH 指示染料 (货号: A3828-23), 进行 LAMP 变色反应。

2. 配制反应体系

| | |
|--------------------------|-------------|
| Bst 4.0 LS Bead | 1 粒 |
| 10xRed pH Dye | 2.5 μ l |
| 10xLAMP Primer Mix | 2.5 μ l |
| 模板 DNA/RNA | X μ l |
| ddH ₂ O 到液体总量 | 25 μ l |

3. 盖上管盖, 置于 65 $^{\circ}$ C 进行反应 20~30min。肉眼观察结果, 黄色为阳性, 红色为阴性。

4. 10xLAMP Primer Mix 的配制, FIP/BIP 分别为 16 μ M、LoopF/B 分别为 4~8 μ M、F3/B3 分别为 2 μ M。引物的稀释液均使用 ddH₂O (pH8.0-9.0), 不能使用含有 Tris 缓冲盐系统。由于该变色方法对 pH 敏感, 多数情况下引物溶解后成酸性, 因此在 10x 引物中加入终浓度 1 mM NaOH 使引物恢复到中性 pH (~8.5), 注意 NaOH 需新鲜配制, 可配制成 50-100 mM 浓度使用。

注意事项:

(1) 红黄变色反应依赖于反应体系中 pH 的变化来实现, 因此模板中 Tris 盐、NaOH 等成分对反应有至关重要的影响。在采用核酸纯化的样本检测时, 推荐使用 ddH₂O 进行洗脱。

(2) 关于 DEPC 水使用的特殊说明: 由于 DEPC 处理过的 ddH₂O 显示很强的酸性, 会直接导致溶解后的冻干球成黄色。所以 DEPC 处理过的 H₂O 必须经 NaOH 溶液调整 pH 到 8.0-9.0 后方可使用。我们推荐直接使用, 水机制备的 18.2 Ω H₂O, 不影响 RNA 样本的扩增。

(3) 在对粗制样本进行检测时, 最佳的粗制样本为拭子样本, 拭子样本经 ddH₂O 浸泡后, 可以直接使用浸泡液作为模板进行扩增, 无需核酸纯化步骤。

(4) 关于 LAMP 成品试剂的建议, Bst 4.0 LS 冻干球和红色 pH 指示染料管(可自行烘干制备)均为室温稳定状态, 可长期保存。将扩增引物与 10x 红色 pH 指示染料(货号: A3828-23)混合后, 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。