

描述: 该制品为全组分冻干品试剂, 包含了低缓冲盐(Low Salt)、Mg²⁺、dNTP、Bst 4.0 DNA/RNA 聚合酶、红黄 pH 变色染料, 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。

由于 LAMP 在反应时会产生大量的 H⁺, 导致反应体系 pH 下降(通常由 pH8.8, 下降到 7.2 以下), 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 Tris (pH8.8) 缓冲盐。在搭配 pH 敏感染料的情况下, 可进行变色 LAMP 扩增。

货号	名称	规格
A3824-01R	Bst4.0 LS Red LyoMix	50Tx2 瓶

储存: -20°C 保存 2 年; 室温 (25°C) 保存 >6 个月。

本制品为冻干品, 使用前每瓶用 0.5 ml ddH₂O 溶解, 溶解后浓度为 2.5x 浓度, 可用于 50 次 25 µl 反应体系的实验。溶解后剩余的试剂于 -20°C 保存 (14 天内有效)、或 -80°C 保存 (3 月内有效)。

使用实例:

1. 配制反应体系

2.5xBst4.0 LS Red Mix (溶解后试剂)	10 µl
10xLAMP Primer Mix	2.5 µl
模板 DNA/RNA	X µl
ddH ₂ O 到总体积	25 µl

2. 盖上管盖, 置于 65°C 进行反应 20~30min。肉眼观察结果, 黄色为阳性, 红色为阴性。

3. 10xLAMP Primer Mix 的配制, FIP/BIP 分别为 16 µM、LoopF/B 分别为 4~8 µM、F3/B3 分别为 2 µM。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。

其它注意事项:

(1) 该试剂对影响 pH 的缓冲盐敏感, 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) 在使用粗制样本时, 建议使用 ddH₂O 保存的样本进行检测。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。

(3) 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, 会直接导致反应体系变为黄色。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 18.2ΩH₂O, 不影响 RNA 样本的扩增。

(4) 该试剂一经溶解后, 不可再次冻干。