

Bst 4.0 SYBR Green Bead

Cat. No.: A3828-03 Size: 100T(25 µl) Store at: -20°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、SYBR Green 荧光染料、Mg²⁺、dNTP、Bst 4.0 DNA/RNA 聚合酶等, 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。

SYBR Green 系列产品为实时荧光检测的专用试剂, 可直接在恒温荧光仪或定量 PCR 以上进行 LAMP 反应扩增。

货号	名称	规格
A3828-03	Bst 4.0 SG Bead	100 个

储存: -20°C 保存 2 年; 室温 (25°C) 保存 >6 个月。

使用冻干微球进行全扩增体系用品的制备方法: 将优化的扩增引物分装于 0.2 ml EP 管底部, 于 70-80°C 条件烘干 1-2h。烘干后的 0.2 ml EP 管已经含有干燥的扩增引物, 再加入一粒冻干微球即可制备成全扩增体系干燥品, 该干燥品无需冷链运输, 可长期保存。

反应体系说明: 每一个冻干微球为按照 25 µl 反应体系建立, 在使用时只需要加入 25 µl 的 ddH₂O 或模板即可进行反应。

使用实例, 进行 LAMP 荧光扩增

1. 配制荧光 LAMP 反应体系

在 0.2 ml EP 反应管中加入下述试剂

Bst 4.0 SG Bead	1 粒
10xLAMP Primer Mix	2.5 µl
模板 DNA/RNA	X µl
ddH ₂ O 到液体总量	25 µl

10xLAMP Primer Mix 浓度: FIP/BIP 分别为 16 µM、LoopF/B 分别为 4-8 µM、F3/B3 分别为 2 µM。

2. 反应体系配好后, 置于荧光定量 PCR 仪中于 65°C 进行反应 15~30min。1min 收集一次荧光信号。读取扩增曲线进行阴性和阳性判读。

3. 根据荧光扩增曲线判读阳性和阴性。

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, 可以有效的减少气溶胶的污染。实验证明矿物油并不影响机器的荧光数值读取。

(2) 关于扩增曲线的异常: 由于 LAMP 扩增速度较快, 荧光信号读取可能存在矫正计算问题, 这与荧光设备的软件算法有关。在有些荧光 PCR 仪上, 在相对荧光模式下, 表现出曲线飞峰、终点曲线下降的问题。此时调整到原始荧光值模式下观察结果, 或致电相应设备供应商进行咨询。