

描述: LAMP (Loop-mediated isothermal amplification) 是一种新型核酸扩增技术。Haigene 依托强大的工具酶开发背景, 首次开发出具有强链置换能力、高效 DNA 合成能力、具有外切活性的 Bst 5.0 DNA 聚合酶, 无论以 DNA 为模板还是以 RNA 为模板, 均可实现 60~65°C 恒温条件下类似 TaqMan PCR 方法的扩增 (LAMP-Taqman 技术)。整个检测时间通常在 20~30min 内即可完成检测。

本试剂盒根据 NOS 终止子的特异性序列基因设计引物, 采用 LAMP-TaqMan 技术, 以提取的 DNA 为模板进行定性检测, 该试剂盒的灵敏度为 2~10 copy。

组分

名称	50 次
LAMP TaqMan Reagent	1 瓶
LAMP Buffer	0.75 ml
GMO tNOS LAMP TaqMan Assay	1 支
GMO tNOS 阳性标准品 (10 ⁵ Copy/μl)	1 支

使用方法:

1. LAMP TaqMan Reagent 为干粉形式, 包含 Bst 5.0 DNA 聚合酶、dNTP 等, 在未溶解前, 该制品可 -20°C 长期保存, 并可室温运输, 性能无下降。使用前每瓶用 0.75 ml 的 LAMP Buffer 溶解后, 可立即使用, 剩余试剂可在 -20°C 保存 1 个月, 在 -60°C 以下长期保存。

2. Plague LAMP TaqMan Assay 为干粉形式, 该制品可 -20°C 长期保存, 并可室温运输, 性能无下降。使用前每瓶用 125 μl 的 ddH₂O 溶解后, 可立即使用, 剩余试剂可在 -20°C 保存 1 个月, 在 -60°C 以下长期保存。

3. 阳性标准品为干粉形式, 首次使用前加入 100 μl 的 ddH₂O, 漩涡 10s 溶解后, 保存于 -20°C。溶解后的制品浓度为 10⁵ copy /μl, 每次实验时采用 2.5 μl 即可。

4. 仪器和程序设置

LAMP 的检测可以使用标准定量 PCR 仪 (也可使用恒温荧光设备), 荧光通道选择 FAM。

使用定量 PCR 仪进行 LAMP 荧光扩增程序如下:

步骤 1: 60°C 10s

步骤 2: 60°C 50s 收集信号, 循环 25 次

总反应时间为 25min。

5. 配置反应体系

溶解后的 LAMP TaqMan Reagent 15 μl

溶解后的 GMO tNOS LAMP TaqMan Assay 2.5 μl

检测模板 DNA 2.5 μl

反应体系配好后, 充分混匀并短暂离心, 置于荧光定量 PCR 仪上进行反应即可。

注意: LAMP 反应高度敏感, 反应结束后, 务必不要打开管盖, 以防止气溶胶污染。一旦发生气溶胶污染, 请使用 HaiGene 的 DNA 气溶胶污染去除剂 (A6001) 进行环境清理。

6. 结果判读

6.1 结果判读成立条件

阴性水对照不起峰、阳性标准品在 10~14 min 起峰条件下结果判读有效。

6.2 阳性结果判读

有扩增曲线, 判定为阳性。

6.3 阴性结果判读

平线表明为阴性样本。