

描述: 该制品为单一组分的 MasterMix (2×浓度), 包含反应缓冲液、SYBR Green 荧光染料、Mg²⁺、dA/C/G/UTP、热敏 UDG、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高效的恒温扩增。

得益于 Bst 4.0 对 dUTP 底物的超强识别能力, 扩增反应所需的核苷酸底物 dTTP 被 dUTP 完全取代, 因此扩增产物均包含 dUTP, 在配合热敏 UDG 的情况下, 气溶胶污染物, 将会在起始反应阶段被彻底清除。而后续热敏 UDG 在 65°C 条件下 3min 内, 完全不可逆失活; 从而既能消除污染物, 又能保证核酸正常扩增。因此, 应用该试剂能大大降低 LAMP 反应中由于气溶胶污染造成的假阳性信号。

SYBR Green 系列产品为恒温荧光扩增的专用试剂, 可配套荧光定量 PCR 仪, 或恒温荧光检测仪使用。SYBR Green 的激发波长为 480nm, 检测波长为 520nm。除此之外, 该制品还可以用于其它恒温扩增实验, 例如 CPA、SMAP 等。

组分

名称	规格
2xBst 4.0 SG MasterMix	1ml

储存: 长期保存制品于-20°C, 保存 2 年。

使用实例 (以 LAMP 恒温荧光扩增为例):

1. 配制反应体系

在 0.2ml EP 反应管中加入下述试剂

2xBst4.0 SG MasterMix (with UDG)	10 μl
*10xLAMP Primer Mix	2 μl
模板 DNA/RNA	X μl
ddH ₂ O 到总体积	20 μl

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

2. 反应体系配好后, 室温 (25-37°C) 放置 5min 后 (消除可能存在的污染产物), 再置于定量 PCR 仪, 设置荧光 PCR 仪的参数为 SYBR Green 或 FAM 通道, 设置恒温循环。

{65°C 10s, 65°C 50s (收信号)}, 循环 20-30 次, 即反应时间为 20-30min。

注意: 反应温度 63~68°C, 首次实验采用 65°C

3. 根据荧光扩增曲线判读阳性和阴性。

注意事项

1. 在用于其它恒温扩增反应时 (如 CPA、SMAP 等), 可参考上述条件进行使用, 可对反应时间进行调整。
2. 关于污染物的去除说明: 热敏 UDG 仅能消化含有 dUTP 的核酸产物, 对使用 dNTP 扩增污染产物无效。因此, 在实验室采用 dNTP 扩增造成污染后, 采用本试剂并不能去除假阳性扩增。