描述：该制品是 5x 浓度的全预混可冻干试剂，内含反应 Buffer、dNTP、Mg^{2+}、HotStart Bst4.2 聚合酶及稳定剂。通用于 DNA 或 RNA 的靶标检测。在配合 HaiGene 研制的 Q10 球型冻干赋形剂(货号:S2012)后，可轻松制备含扩增引物的冻干球。这种组合设计便于研究、开发、生产于一体流程化操作，并兼具一定的灵活性，减少了试剂开发和固定化生产的难度。

制品性能：（1）HotStart Bst 4.2 包含热启动 Aptamer，该配体确保酶在<30℃时，酶活封闭效率>90%,在>60°C 时 1min 内完全释放酶活。该特性利于室温建立反应体系，并大幅降低了低温条件下的非特异扩增;（2）反应温度提升到 70°C，大幅降低引物 Dimer 的形成，提高扩增特异性，并使得粗样品核酸释放更加充分；（3）包含 Helicaser，因此，允许在不使用 F3/B3 引物的情况下进行 eLAMP 扩增（easy LAMP），并允许 FIP/BIP 的引物用量降低一倍。这将进一步降低非特异扩增，并使得扩增均一性大幅提升。

组分

名 称	100Tx25μl	500Tx25μl
5xHS Bst4.2 LyoMix	500 μl	1.25 mlx2
50xLHNB Dye	50 μl	250 μl
10xGuHCl	1.5 ml	1.5 ml

注意事项：

(1) 长期保存请置于-20°C 以下（24 个月有效）；制品反复冻融 10 次不影响性能，但应避免反复冻融；短期推荐置于 2-8℃保存，在此条件下制品稳定储存 1 周。

(2) 1xHS Bst4.2 Mix 中含 0.32U/μl 的 HS Bst4.2 必要时可补充。

(3) 10xGuHCl 为 500 mM，1x 下 50 mM 的 GuHCl 能显著加速 LAMP 扩增约 3~4min。必要时还可以作为样本的裂解液。

(4) 制品中的 LHNB 染料(Leuco-HNB，隐色 HNB 染料)，在反应起始前与 Mg^{2+}结合产生深紫罗兰色，随着 LAMP 反应的进行，产生的 PPi（无机焦磷酸盐）结合体系中的 Mg^{2+}，使得 LHNB 显示出淡绿色。因此体系对金属离子、EDTA、柠檬酸钠等敏感。

(LHNB-Mg^{2+}复合物) → (PPi-Mg^{2+}) + (LHNB)
深紫罗兰色 淡绿色

(5) 本制品在 1x 浓度情况下，对如下试剂的耐受度，Tris-HCl(pH8.8) ≦10 mM; NaOH≦1 mM; Tween20%≦1%; EDTA(pH8.0) ≦ 20 μM; 肝素≦0.5 IU/ml。

(6) LHNB 是还原状态下的染料，任何强氧化剂（H_2O_2、次氯酸钠等）均会破坏 L-HNB 的结构，从而直接导致试剂变为深绿色。

(7) 50xLHNB 为紫绿变色染料。如需要红黄变色体系，可联系 HaiGene，索取更换为 100xRed Dye。

使用方法

1. 用于常规科研检测和冻干前的研究实验

1.1 25xLAMP Primer Mix 的准备

	25x 标准 LAMP	25xeLAMP	1x
FIP/BIP	25-40 μM each	25-40 μM each	1-1.6 μM each
LF/LB	10~20 μM each	10~20 μM each	0.4~0.8 μM each
F3/B3	5 μM each	非必须	0.2 μM each

注意：eLAMP（easy LAMP）为去除 F3/B3 引物的方法，为 Bst4.2-3.2 系列专用的使用策略，对于大多数引物组，在 Helicaser 的加持下，扩增速度几乎不受影响。除此外，在常规的测试中，无需制备 25x 浓度的引物，10x 浓度的引物足以满足冻干前的所有实验。

1.2 配制 LAMP 反应体系

5xHS Bst4.2 LyoMix	5 μl
25xLAMP Primer Mix	1 μl
50xLHNB Dye	0.5 μl
10xGuHCl	2.5 μl
模板 DNA/RNA	10 ng
ddH_2O Up to	25 μl

1.3 扩增反应

反应体系配好后，置于 70°C 反应 20~40min。阳性为淡绿色，阴性为紫罗兰色。

2. 冻干球的制备

5xHS Bst4.2 LyoMix	5 μl	
3xQ10 Freeze-Dry Bulks	3.33 μl	货号：S2012
25xLAMP Primer Mix	1 μl	
50xLHNB Dye	0.5 μl	紫绿变色
ddH2O Upto	10 μl	

该试剂冻干体系 10 μl，扩增反应体积 25μl，球直径约 2.6mm。

3. 冻干程序(不同的冻干机有差异，仅供参考)

制球完毕后，-50°C 预冻 5-10min; -50°C 4-8h（真空段）；-50°C 升温到 30°C（每小时升温 5°C）；30°C 6-10h。

4. 冻干品的使用

向冻干品中加入 20~22.5μl 的 ddH_2O, 2.5μl 的 10xGuHCl 后，即可与液体试剂相同的操作方法进行扩增反应。

特别说明：

（1）在液体试剂配制完毕后，建议 1h 内完成制球或分装。

（2）GuHCl 具有强腐蚀性，不建议冻干入球，推荐采用 250 mM 或 500 mM 的 GuHCl 来裂解、变性样本后，一起加入反应体积（5 μl 或 2.5 μl）。

（3）防止气溶胶污染，尽可能进行分区操作。