

描述: 该试剂是 HaiGene 精心研制的高性能的 LAMP 扩增用试剂, 通用于 DNA 或 RNA 的靶标检测。在 Bst4.2 快速、高耐受性的基础上, 不仅实现稳定、快速、高灵敏度的扩增性能, 在 HotStart 性能的支持下, 还实现了假阳性的大幅下降。专属的冻干配方, 赋予了该试剂的多用途性, 不仅能满足常规的科研需求, 还使得冻干产品开发和生产在一种试剂下同步完成。

制品性能: (1) HotStart Bst 4.2 包含热启动 Aptamer, 该配体确保酶在 <30°C 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。

制品中的 LHNB 染料在反应起始前与 Mg²⁺ 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 Mg²⁺, 使得 LHNB 显示出淡绿色。



深紫罗兰色 淡绿色

名称	100Tx20μl	400Tx20μl
HS-Bst4.2 LyoMixA	100 μl	400 μl
HS-Bst4.2 LyoMixB	0.75 ml	1.5 mlx2
50xLHNB Dye	45 μl	180 μl

储存: 长期保存请置于 -20°C 以下 (18 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°C 保存, 在此条件下制品稳定储存 2 周。制品由于含有高浓度的冻干赋形剂, 因此, 在融化时可能会有白色不溶物, 此时放置到 30°C (或手心) 3-5min 后即可完全溶解, 性能无下降。

1. 用于常规科研检测和冻干前的预实验

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 的支持下, 扩增速度几乎不受影响。除此外, 在常规的测试中 (非冻干生产), 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

HS-Bst4.2 LyoMixB	7.5 μl
HS-Bst4.2 LyoMixA	1 μl
25xLAMP Primer Mix	0.8 μl
50xLHNB Dye	0.4 μl
模板 DNA/RNA(最高)	10.3 μl
Total	20 μl

1.3 扩增反应

反应体系配好后, 置于 70°C 反应 25-45min。

2. 冻干反应

专属的配方使得该试剂, 易于成球冻干, 无需添加任何其它冻干辅料。专属的 HotStart 性能, 允许将引物一起冻干制备全体系冻干球。但对于不同的用户来讲, 由于冻干形式、冻干体积、上机量、冻干容器、冻干磨具等因素存在差异, 以下程序仅供参考。进一步的程序优化均需根据具体情况自行调整。对于非专业人员来讲, 请直接采购 HaiGene 的冻干制品, 或委托订制。

2.1 配制冻干 LAMP 反应体系

HS-Bst4.2 LyoMixB	7.5 μl
HS-Bst4.2 LyoMixA	1 μl
25xLAMP Primer Mix	0.8 μl
50xLHNB Dye	0.4 μl
ddH ₂ O	0.3 μl
冻干总体积	10 μl

体系配置完毕后, 1h 内完成, 成球步骤, 进行后续冻干。

2.2 制品成型后的冻干程序

-50°C 预冻 5-10min; -50°C 4-8h (真空段); -50°C 升温到 25°C (每小时升温 5°C); 25°C 2-10h; 25°C 恒温。

其它说明:

(1) Bst 4.2 & 3.2 Polymerase 在用于 LAMP 扩增时的推荐反应温度为 70°C。由于 Helicaser 的反应温度为 70°C, 因此该酶在 65°C 扩增时, 性能会大幅下降。

(2) 制品中包含高浓度的盐组分, 使用时做好个人防护, 防止制品与皮肤、眼、鼻、呼吸道等接触和吸入, 一旦接触或吸入, 请用大量的清水冲洗。

(3) 防止气溶胶污染, 尽可能进行分区操作。