

描述: 该制品为全体系冻干微球制品, 包含了 HotStart Bst4.2 DNA/RNA 聚合酶、Helicaser、dNTP、Mg²⁺、反应缓冲、L-HNB 变色指示剂(Leuco-HNB, 隐色 HNB 染料), 其它稳定剂。

Bst4.2 具有以下性能: (1) Bst 4.2 全系包含热启动 Aptamer, 该配体确保酶在<30℃时, 酶活封闭效率>95%, 在>60℃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℃, 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) 全系包含 Helicaser, 因此, 允许在不使用 F3/B3 引物的情况下进行 LAMP 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 L-HNB 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 L-HNB 显示出淡绿色。

(L-HNB-Mg²⁺复合物) → (PPi-Mg²⁺) + (L-HNB)
深紫罗兰色 淡绿色

名 称	100T
HotStart Bst 4.2 L-HNB Bead	100 个

储存: -20℃干燥密封保存 24 个月; 室温 (25℃) 密封保存 12 个月。避免受潮。

特殊说明:

(1) Bst4.2 DNA/RNA Polymerase 在用于 LAMP 扩增时的推荐反应温度为 65-70℃, 最佳反应温度为 70℃。因此其可完全替代 HaiGene 的 Bst4.0 系列, 用于标准 LAMP 的扩增。

(2) 由于 Helicaser 的反应温度为 70℃, 因此在进行 eLAMP 扩增时, 反应温度为 70℃。

(3) 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。

(4) 防止气溶胶污染, 尽可能进行分区操作。

1. 标准 LAMP 和 eLAMP 扩增的区别

本试剂既可以用于标准 LAMP 扩增, 也可以用于 eLAMP 扩增。

1.1 10x 标准 LAMP Primer Mix

FIP/BIP=16 μM each; LF/LB=4 μM each; F3/B3=2 μM each

1.2 10xeLAMP Primer Mix

FIP/BIP=8 μM each; LF/LB=4 μM each

注意: eLAMP (easy LAMP) 为去除 F3/B3 引物的方法, 为 Bst4.2 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。如引物扩增效率低, 可提高 FIP/BIP 浓度到 12~16 μM。

1.3 扩增温度不同

标准 LAMP 扩增	eLAMP 扩增
65-70 ℃ 均可	70 ℃ 反应

2. 配制 LAMP 反应体系

HotStart Bst 4.2 L-HNB Bead 1 个

10x Primer Mix 2.5 μl

模板 DNA/RNA X μl

ddH₂O 到总体积 25 μl

反应体系配好后, 置于 65-70 ℃ 反应 20~30min, 反应完毕后观察颜色, 紫色为阴性, 绿色为阳性扩增。

注意事项:

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

(2) L-HNB 是还原状态下的染料, 任何强氧化剂 (H₂O₂、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蓝绿色。