

描述: 该制品是 5x 浓度的全预混可冻干试剂, 内含反应 Buffer、dNTP、Mg²⁺、HotStart Bst4.2 聚合酶及稳定剂。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。5xLyoMix 不含甘油, 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°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。

本品为多用途的试剂, 适用于 LAMP 进行 SYBR Green、Molecular Beacon 探针、DP-LAMP 探针等检测。

组分

名 称	100Tx25μl	500Tx25μl
5xHS Bst4.2 LyoMix	500 μl	1.25 mlx2
75xSYBR Green Dye	30 μl	150 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°C 保存, 在此条件下制品稳定储存 1 周。
- (2) 1xHS Bst4.2 Mix 中, 包含 0.32U/μl 的 HotStart Bst4.2 必要时可单独补充。
- (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) SYBR Green 染料对光敏感、易于失效, 注意避光保存, 使用的终浓度为 0.75x。该试剂为非必须试剂, 在进行试纸条、探针、变色、浊度等实验时无需加入。

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	
75xSYBR Green Dye	0.25 μl	非必须
10xGuHCl	2.5 μl	
模板 DNA/RNA	10 ng	
ddH ₂ O Up to	25 μl	

1.3 扩增反应

置于 70°C 恒温反应 20~40min (1min 收集一次荧光信号)。

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	
75xSYBR Green Dye	0.25 μl	荧光(非必须)
ddH ₂ O Upto	10 μl	

该试剂冻干体系 10 μl, 扩增反应体积 25 μl, 球直径约 2.6 mm。

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 20~22.5 μl 的 ddH₂O, 2.5 μl 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。