

描述: 本品为 LAMP 荧光检测专用的试剂, 2.5xBst4.2 SYBR Green Mix 包含了 Helicaser、dNTP、Mg²⁺、SYBR Green 染料、反应缓冲盐、冻干赋形剂和稳定剂。HotStart Bst4.2 DNA/RNA 聚合酶为单独的组分。本品不仅可作为常规检测试剂, 对于具有冻干经验的研究者, 本品还直接进行后续冻干, 无需再加入任何其它辅料。

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。

名 称	200T
2.5xBst4.2 SYBR Green Mix	1 mlx2
HotStart Bst 4.2 DNA/RNA Polymerase (8U/μl)	200 μl

储存: 长期保存请置于-20℃以下 (12 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; 制品由于含有高浓度的糖组分, -20℃保存的制品, 在融化时可能会有结晶物。此时 2.5xBst4.2 Mix 可在 37℃进行彻底融化, 而 Bst4.2 酶制品在 30℃的温度下融化, 过高的温度可能会导致热启动性能下降。一经融化推荐置于 2-8℃保存, 在此条件下制品稳定储存 6 个月。

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

2.5xBst4.2 SYBR Green Mix	10 μl
10x Primer Mix	2.5 μl
HotStart Bst 4.2 (8U/μl)	1 μl
模板 DNA/RNA	X μl
ddH ₂ O 到总体积	25 μl

反应体系配好后, 置于 65-70℃反应 20~30min, 1min 收集一次荧光信号。读取扩增曲线进行阴性和阳性判读。

3. 试剂的冻干反应 (仅限专业人员)

本试剂可供具有冻干经验的人员直接进行后续冻干, 试剂的配方对冻干条件不苛刻。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。

2.5xBst4.2 SYBR Green Mix	10 μl
25xPrimer Mix	1 μl
HotStart Bst 4.2 (8U/μl)	1 μl
Total	12 μl

制品成型后的冻干程序:

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