

**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、Mg<sup>2+</sup>、反应缓冲, 其它稳定剂。

Bst4.2 具有以下性能: (1) Bst4.2 包含热启动 Aptamer, 该配体确保酶在 <30°C 时, 酶活封闭效率 >95%, 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 探针等应用。

#### 组分

名称	96Tx25µl	480Tx25µl
Bst 4.2 Basic Bead	96 个/瓶	96 个/瓶 x5
10xGuHCl	1.5 ml	1.5 ml

#### 注意事项:

- (1) 冻干制品未溶解状态下: 37°C 下运输 (1 个月有效), 25°C 室温 (1 年有效), 长期保存请置于 -20°C 以下 (5 年有效)。
- (2) 10xGuHCl 为 500 mM, 1x 下 50 mM 的 GuHCl 能显著加速 LAMP 扩增约 3~4min。推荐采用 500 mM 的 GuHCl 来裂解、变性样本后, 一起加入反应体积 (2 µl)。
- (3) 每球的反应体积为 20 µl, 直径 2.4 mm。其它体积和规格的冻干球, 可从 HaiGene 订制。
- (4) 防止气溶胶污染, 尽可能进行分区操作。

#### 典型的 LAMP 反应

##### 1. 10xLAMP Primer Mix 的准备

	10x 标准 LAMP	10xeLAMP	1x
FIP/BIP	10-16 µM each	10-16 µM each	1-1.6 µM each
LF/LB	4~8 µM each	4~8 µM each	0.4~0.8 µM each
F3/B3	2 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 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。

##### 2. 配制 LAMP 反应体系

Bst 4.2 Basic Bead	1 个
10xLAMP Primer Mix	2.5 µl
10xGuHCl	2.5 µl
模板 DNA/RNA	10ng
ddH <sub>2</sub> O Up to	25 µl

##### 3. 扩增反应

反应体系配好后, 置于 70°C 反应 20~40min。。

#### 特别说明:

- (1) 未知的原因, 在反应体系中加入 50 mM GuHCl, 对多数引物来讲, 可加速 LAMP 扩增 3~5min, 并提高 LAMP 检测灵敏度。但这不是绝对的, 有些引物组具有相反的效应。
- (2) 该制品不具有防污染功能, 因此, 尽可能进行分区操作, 防止气溶胶污染工作环境。
- (3) Bst4.2 最佳反应温度为 70°C, 在 65°C 条件下反应速度会下降 25%。