

描述: Bst4.2 Basic Mix (可冻干) 为浓度 3.125x 的浓缩试剂, 包含了 Helicaser、dNTP、Mg²⁺、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。本品针对于具有冻干经验的研究者, 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 $^{\circ}$ C时, 酶活封闭效率>95%, 在>60 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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) 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。

本品为多用途的试剂, 适用于 LAMP 进行 Molecular Beacon 探针、DP-LAMP 探针、试纸条等检测。

名 称	200T
3.125xBst4.2 Basic Mix(可冻干)	1.6 ml
HotStart Bst 4.2 (16U/ μ l)	100 μ l

储存: 长期保存请置于-20 $^{\circ}$ 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; 制品由于含有高浓度的糖组分, -20 $^{\circ}$ C 保存的制品, 在融化时可能会有结晶物。此时 3.125xBst4.2 Basic Mix 可在 37 $^{\circ}$ C 进行彻底融化, 而 Bst4.2 酶制品在 30 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C 保存, 在此条件下制品稳定储存 1 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 70 $^{\circ}$ C, 最佳反应温度为 70 $^{\circ}$ C。

(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。

1. 10xLAMP Primer Mix 的配制

	标准 LAMP	eLAMP
FIP/BIP	16 μ M each	8~16 μ M each
LF/LB	4~8 μ M each	4~8 μ M each
F3/B3	2 μ M each	非必须

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。

2. 配制 LAMP 反应体系

3.125xBst4.2 Basic Mix	8 μ l
10x Primer Mix	2.5 μ l
HotStart Bst 4.2(16U/ μ l)	0.5 μ l
模板 DNA/RNA	X μ l
ddH ₂ O 到总体积	25 μ l

反应体系配好后, 置于 70 $^{\circ}$ C 反应 20~40min。

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。

3.125xBst4.2 Basic Mix	8 μ l
25xPrimer Mix	1 μ l
HotStart Bst 4.2 (16U/ μ l)	0.5 μ l
ddH ₂ O 到总体积	9.5-10 μ l

制品成型后的冻干程序:

-50 $^{\circ}$ C 预冻 10min; -50 $^{\circ}$ C 4-8h (真空段); -50 $^{\circ}$ C 升温到 25 $^{\circ}$ C (每小时升温 5 $^{\circ}$ C); 25 $^{\circ}$ C 2h; 25 $^{\circ}$ C 恒温。