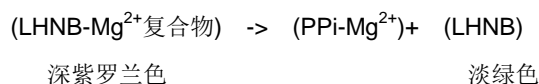


描述: 该制品为全体系冻干微球制品, 包含了 HotStart Bst4.2 DNA/RNA 聚合酶、Helicaser、dNTP、Mg²⁺、反应缓冲、LHNB 变色指示剂(Leuco-HNB, 隐色 HNB 染料), 其它稳定剂。

Bst4.2 具有以下性能：（1）**Bst4.2** 包含热启动 **Aptamer**，该配体确保酶在 $<30^{\circ}\text{C}$ 时，酶活封闭效率 $>95\%$ ，在 $>60^{\circ}\text{C}$ 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。

制品中的 LHNB 染料在反应起始前与 Mg^{2+} 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 Mg^{2+} , 使得 L-HNB 显示出淡绿色。



组分

名 称	96Tx25μl	480Tx25μl
Bst 4.2 LHNB Bead	96 个/瓶	96 个/瓶 x5
10xGuHCl	1.5 ml	1.5 ml

注意事项:

(1) -20℃ 以下干燥密封保存 (24 个月有效); 室温干燥密封保存 (6 个月有效)。由于制品为冻干形态, 极易吸潮, 在制品开封后, 推荐放置-20 度以下保存 12 个月。

(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 μ l)。

(3)本制品在 1x 浓度情况下,对如下试剂的耐受度,
Tris-HCl(pH8.8) ≤ 10 mM; NaOH ≤ 1 mM; Tween20%
 $\leq 1\%$; EDTA(pH8.0) ≤ 20 μ M; 肝素 ≤ 0.5 IU/ml。

(4) LHNB 是还原状态下的染料，任何强氧化剂（ H_2O_2 、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。

(5) 冻干球直径约 2.5 mm。

(6) 防止气溶胶污染，尽可能进行分区操作。

1. 10xLAMP Primer Mix 的配制

	10x 标准 LAMP	10xeLAMP	1x
FIP/BIP	10-16 μ M each	10-16 μ M each	1-1.6 μ M each
LF/LB	4~8 μ M each	4~8 μ M each	0.4~0.8 μ M each
F3/B3	2 μ M each	非必须	0.2 μ M 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。

2. 配制 LAMP 反应体系

Bst 4.2 LHNB Bead	1 个
10xLAMP Primer Mix	2.5 μ l
10xGuHCl	2.5 μ l
模板 DNA/RNA	10 ng
ddH ₂ O Up to	25 μ l

3 扩增反应

反应体系配好后，置于 70℃ 反应 20~40min。阳性为淡绿色，阴性为紫罗兰色。

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。如需要防污染功能，可转向 **Bst dU5.0** 系列产品。

(3) Bst4.2 最佳反应温度为 70℃, 在 65℃ 条件下反应速度会下降 25%。