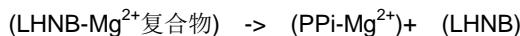


**描述:** 该制品为全体系冻干微球制品，包含了 HotStart Bst4.2 DNA/RNA 聚合酶、Helicase、dNTP、Mg<sup>2+</sup>、反应缓冲、LHN B 变色指示剂(Leuco-HNB, 隐色 HNB 染料)，其它稳定剂。

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°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 Helicase，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 LHN B 染料在反应起始前与 Mg<sup>2+</sup>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<sup>2+</sup>，使得 L-HNB 显示出淡绿色。



深紫罗兰色淡绿色

## 组分

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

## 注意事项：

- (1) -20°C 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 μl)。
- (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% ≤ 1%; EDTA (pH8.0) ≤ 20 μM; 肝素 ≤ 0.5 IU/ml。
- (4) LHN B 是还原状态下的染料，任何强氧化剂 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、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 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 Bst4.2-3.2 系列专用的使用策略，对于大多数引物组，在 Helicase 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 LHN B Bead	1 个
10xLAMP Primer Mix	2.5 μl
10xGuHCl	2.5 μl
模板 DNA/RNA	10 ng
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。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°C，在 65°C 条件下反应速度会下降 25%。