

产品概述

LAMP (Loop-mediated isothermal amplification) 环介导恒温扩增反应是一种核酸扩增技术。本试剂盒是采用探针法的恒温扩增,能够用于定性检测样品(如病毒)中的 DNA。Bst3.0 来源于 *Bacillus stearothermophilus* DNA Polymerase, 与野生型 Bst DNA 聚合酶大片段相比,该酶可有效提高扩增速度、产量等。Bst3.0 具有 5' → 3' DNA 聚合酶活性和强链置换能力,无 3' → 5' 外切酶活性,可用于 DNA 链置换反应和 LAMP 扩增等。Bst3.0 HS 是在 Bst 3.0 的基础上采用可逆性修饰技术获得的热启动恒温聚合酶,能够在室温下完全封闭酶的活性,可在室温下建立反应,防止非特异性扩增,提高反应效率。另外, Bst3.0 HS DNA 聚合酶不需要单独的激活步骤。

试剂组成

1. Bst3.0 HS (8 U/μL)
2. RNase H II (50 mU/μL)
3. 5×LAMP Premix Buffer-T8ANT (Mg²⁺ free)
4. 35.71×MgSO₄

保存条件

-20±5°C 存储;使用前应混匀,避免反复冻融。

反应条件

60-65°C, 30-60 min (每 min 收集荧光)。

液体反应体系配制

试剂	25 μL 体系	50 μL 体系	终浓度
Bst3.0 HS (8 U/μL)	1.5 μL	3 μL	0.48 U/μL
RNase H II (50 mU/μL)	0.25 μL	0.5 μL	0.5 mU/μL
5×LAMP Premix Buffer-T8ANT (Mg ²⁺ free)	5 μL	10 μL	1×
35.71×MgSO ₄	0.7 μL	1.4 μL	1×
10×Primer Mix ¹	2.5 μL	5 μL	1×
10×Probe Mix ²	2.5 μL	5 μL	1×
Template ³	—	—	—
ddH ₂ O	To 25 μL	To 50 μL	—

1. 10×Primer Mix: 16 μM FIP, 16 μM BIP, 2 μM F3, 2 μM B3, 4 μM LoopF and 4 μM LoopB in TE。

2. 10×Probe Mix : 1 μM probe primer in TE。

3. 为了获得较佳扩增效果,添加适当的模板,如质粒 10 fg-1 ng, 基因组 1 ng-100 ng, 适量的 DNA 提取液处理的模板。

质量控制

1. 功能检测: LAMP 的灵敏度、稳定性、可重复性。
2. 无外源核糖核酸酶活性、内切酶活性,无外切脱氧核糖核酸酶污染。

货号: HW1007-P01-064805

Lamp Premix Plus (Probe)
(Bst3.0 HS) (064805)

V01



常见问题及解答

LAMP 扩增产物少或没有扩增:

1. 增加模板量, 增加酶量。
2. 更换引物, 建议多设计几组引物, 通过预实验筛选最佳引物。引物的设计请参考 <http://primerexplorer.jp/e/>。
3. 尽量使用环引物, 可以提高扩增效率、缩短扩增时间。