

## Colorimetric LAMP Kit (RY)

货号: HW206-M01

### 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。本试剂盒采用 LAMP 技术, 利用 Bst2.0 DNA Polymerase 和特异性引物识别靶序列的 6 个独立区域, 恒温扩增产生双链 DNA。扩增反应过程中产生焦磷酸根, 反应后 pH 值会降低, 因此可藉由 pH 指示剂的颜色变化进行结果的判读。本试剂盒是以甲酚红和苯酚红混合试剂为 pH 指示剂, 反应前为紫红色, 阳性反应后变为黄色, 阴性孔仍保持紫红色。Bst2.0 DNA 聚合酶来源于 *Bacillus stearothermophilus* DNA Polymerase I, 具有 5'→3' DNA 聚合酶活性和强链置换能力, 无 5'→3'外切酶活性, 无 3'→5'外切酶活性。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。。Bst 2.0 HS 是在 Bst 2.0 DNA 聚合酶的基础上采用可逆性修饰技术获得的热启动等温聚合酶, 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, Bst 2.0 HS DNA 聚合酶不需要单独的激活步骤。

### 试剂组成

2×LAMP Premix Buffer (RY)、Bst2.0 HS (8 U/μL)、Neoscript RTase (200 U/μL)。

### 保存条件

长期保存应置于-20 °C。

### 质量控制

- 1 功能检测: RT-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。

### RT-LAMP目视法反应体系配制

试剂	25 μl 体系	50 μl 体系	终浓度
2×LAMP Premix Buffer (RY)	12.5 μl	25 μl	1×
10×Primer mix*	2.5 μl	5 μl	1×
Bst2.0 (8 U/μL)	1 μl	2 μl	~0.32 U/μl
Neoscript RTase (200 U/μL) **	0.25μl	0.50μl	2U/μl
Template	X μl	X μl	-
ddH <sub>2</sub> O	-	-	-
Total volume	25 μl	50 μl	

\*10×Primer mix : 16 μM FIP, 16 μM BIP, 2 μM F3, 2 μM B3, 4 μM LoopF, 4 μM LoopB in TE。

\*\* Neoscript RTase (200 U/μL) 的使用量可根据实验调整。

### 反应条件

60-65 °C, 60 min。

### 常见问题及解答

1 扩增产物少或无扩增产物。

(1) 增加模板, 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) 能用环引物的情况下尽量使用环引物, 以缩短扩增时间。