

## 2×RT-Lamp Premix（探针法）

货号：HW206-P01

### 产品介绍

LAMP（Loop-mediated isothermal amplification）环介导等温扩增反应是一种核酸扩增技术。本试剂盒是采用探针法（RNase HII）的恒温扩增，能够用于检测样品（如病毒）中的 RNA。Bst 2.0 DNA 聚合酶具有 5'→3' 的聚合酶活性和强链置换活性，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。

### 试剂原理

本试剂盒采用 Lamp 技术，针对目的序列设计 4-6 条特异性 Lamp 专用引物以及 RNase HII 依赖的探针引物，利用 Bst 恒温扩增酶的链置换以及聚合酶活性扩增靶标目的片段。RNase HII 特异性识别探针与靶标序列结合的 DNA 双链，并切断探针引物发出荧光信号，通过仪器检测荧光信号来判断是否有扩增。

### 试剂组成

2×RT-LAMP Premix Buffer II、Bst2.0 HS (8U/μL)、Neoscript RTase (200U/μL)、RNase HII (50mU/μL)

### 保存条件

长期保存应置于-20℃。

### 质量控制

1. 功能检测：RT-LAMP 的灵敏性、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 反应体系配制

试剂	25μl 体系	50μl 体系	终浓度
2×RT-LAMP Premix Buffer II	12.50μl	25μl	1×
10×Primer mix*	2.50μl	5μl	1×
Bst2.0 HS (8U/μL)	1μl	2μl	~0.32U/μl
Neoscript RTase** (200U/μL)	0.25μl	0.50μl	2U/μl
RNase HII *** (50mU/μL)	0.25μl	0.50μl	0.50mU/μl

### RT-LAMP 试剂

Template	Xμl	Xμl	-
ddH <sub>2</sub> O	-	-	-
Total volume	25μl	50μl	

\* 10×Primer mix :16 μM FIP, 16 μM BIP, 2 μM F3, 2 μM B3, 4 μM LoopF, 4 μM LoopB, 1μM RNase HII probe primer in TE Buffer。

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

\*\*\* 客户可用其他耐热的 RNase HII 替代，不同 RNase HII 用量可能不同，需要实验调整。

### 反应条件

60-65℃，60min（每 min 收集荧光）。

### 常见问题及解答

1. 扩增产物少或没有扩增。
  - （1）增加模板，增加酶量。
  - （2）更换引物，建议多设计几组引物，用实验来验证，选出最佳引物。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，可以缩短扩增时间。