

2×Lamp Premix (探针法)

货号: HW205-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 DNA。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 × LAMP Premix Buffer、Bst2.0 HS (8U/μL)、RNase HII (50mU/μL)。

保存条件

长期保存应置于-20℃。

质量控制

- 功能检测：LAMP 反应的灵敏性、稳定性、可重复性。
- 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。

Lamp 反应体系配制

试剂	25μl 体系	50μl 体系	终浓度
2×LAMP Premix Buffer	12.5μl	25μl	1×
10×Primer mix*	2.5μl	5μl	1×
Bst2.0 HS (8U/μL)	1μl	2μl	~0.32U/μl
RNase HII (50mU/μL)**	0.25μl	0.5μl	0.5mU/μl
Template***	Xμl	Xμl	-
ddH ₂ O	-	-	-
Total volume	25μl	50μl	

RT-LAMP 试剂

*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。

**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。

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

反应条件

60-65°C, 60min (每 min 收集荧光)。

常见问题及解答

- 扩增产物少或没有扩增。
 - 增加模板，增加酶量。
 - 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/>。
 - 能用环引物的情况下尽量使用环引物，可以缩短扩增时间。