

天
净
沙
系
列

CAT#:211204-50
低温运输, -20°C保存

BINGENE

2 × LAMP MasterMix (含荧光染料)

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址: www.bingene.com; 电话: 400-6005850; 电邮: order@bingene.com

<p>产品及特点</p>	<p>2×LAMP MasterMix (含荧光染料) 是即开即用型的、含有 LAMP 扩增所需的所有成分的 MasterMix, 可以用于染料法荧光 LAMP 扩增。LAMP 即 Loop-Mediated Isothermal Amplification (环介导等温扩增), 它利用 4 条模板专一的特异引物和具有链置换能力的 Bst DNA 聚合酶, 在等温条件下(63℃左右) 30–60 分钟完成扩增。该技术在灵敏度、特异性和检测范围等指标上能媲美甚至优于定性 PCR 技术, 同时还不需要昂贵的仪器设备。目前已成功应用于生物的快速检测, 广泛用于各个领域。本产品是常规 LAMP 产品的升级版, 含有荧光染料, 具有下列特点:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 即开即用, 不需要用户准备各个成分。 2. 含有荧光染料, 如果使用荧光扩增仪 (如荧光 PCR 仪), 则可以进行实时荧光 LAMP 定性检测。不建议用于实时荧光 LAMP 定量检测, 因为 LAMP 技术本身并不适合于定量检测。 3. 灵敏度比常规的电泳法 LAMP 检测一般高 10 倍, 比常规 PC 高 100 倍。 4. 闭管操作, 不需要再打开反应管, 避免了常规 LAMP 电泳取样时引起的扩增产物污染。 5. 高特异性, 本公司精心优化的 MasterMix 配方, 假阳性率一般比自配的 LAMP 试剂更低。 6. 本试剂盒足够 50 次 20uL 体系的染料法荧光 LAMP 扩增。 7. 提供扩增对照, 便于在遇到困难时分析失败原因。 8. 本产品只能用于科研, 不能用于临床。 																							
<p>规格及成分</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>规格</th> <th>包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2×LAMP MasterMix (含荧光染料)</td> <td>211204a</td> <td>450uL</td> <td>0.5mL 绿盖管</td> </tr> <tr> <td>Bst DNA 聚合酶</td> <td>211204b</td> <td>50uL</td> <td>0.5mL 红盖管</td> </tr> <tr> <td>阳性对照模板-引物混合物</td> <td>211204c</td> <td>50uL</td> <td>0.5mL 蓝盖管</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>211204sc</td> <td>1 份</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>				成份	编号	规格	包装	2×LAMP MasterMix (含荧光染料)	211204a	450uL	0.5mL 绿盖管	Bst DNA 聚合酶	211204b	50uL	0.5mL 红盖管	阳性对照模板-引物混合物	211204c	50uL	0.5mL 蓝盖管	使用手册	211204sc	1 份	
成份	编号	规格	包装																					
2×LAMP MasterMix (含荧光染料)	211204a	450uL	0.5mL 绿盖管																					
Bst DNA 聚合酶	211204b	50uL	0.5mL 红盖管																					
阳性对照模板-引物混合物	211204c	50uL	0.5mL 蓝盖管																					
使用手册	211204sc	1 份																						
<p>运输及保存</p>	<p>低温运输, -20℃保存, 有效期一年。</p>																							
<p>自备试剂</p>	<p>LAMP 模板、LAMP 引物</p>																							
<p>使用方法</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 制备模板DNA: 用于选用合适的方法制备模板DNA。如果有N个样品, 最好设置N+2个样品制备, 多出的两个一个是样品制备阳性对照, 一个是样品制备阴性对照。 2. 配制5×LAMP引物混合液。 																							

先加超纯水将合成的HPLC级别的下列引物干粉稀释到下表所标注的母液浓度，然后在一新的离心管中按表中所列体积加入引物母液和超纯水，最后得到1mL的5×LAMP引物混合液，此混合液足够250次20uL体系的LAMP扩增。如果需要配制的5×LAMP引物混合液体积异于1mL，则各成分的用量请按比例调整。引物混合液可以在-20℃放置2年。

引物名称	母液浓度	加母液量	在5×LAMP引物混合液中的浓度
FIP 引物	100 uM	80 uL	8 uM
BIP 引物	100 uM	80 uL	8 uM
F3 引物	100 uM	10 uL	1 uM
B3 引物	100 uM	10 uL	1 uM
Loop F	100 uM	20 uL	2 uM
Loop B	100 uM	20 uL	2 uM
超纯水		780 uL	
终体积		1 mL	

注：如果没有Loop引物，则用水替代。

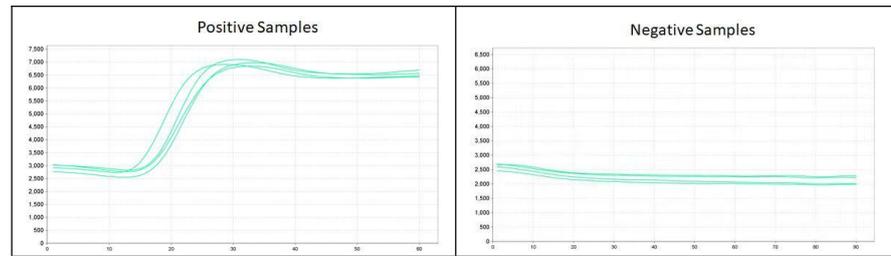
3. 在冰上融化2×LAMP MasterMix, 混匀, 稍离心。第一次使用时, 请将50uL Bst DNA聚合酶全部加入到2×LAMP MasterMix中轻柔混匀, 然后再使用。如果有N个样品, 则在N+2个反应管中加入以下组份, 多出的一管是LAMP扩增阳性对照 (PC), 一管是LAMP扩增阴性对照 (NC) :

成份	N+2 个样品管	LAMP 扩 增 PC	LAMP 扩 增 NC
2×LAMP MasterMix (加酶后)	10 uL	10 uL	10 uL
自备 5×LAMP 引物混合液	4 uL	不加	4 uL
阳性对照模板-引物混合物	不加	4 uL	不加
自备模板 DNA	1-6uL	不加	不加
补自备超纯水到	20 uL	20 uL	20 uL

4. 混匀, 在荧光PCR仪上65℃保温60分钟, 每分钟采集一次荧光信号, 荧光信号通道为SYBR Green。注意: 必须选择热盖打开, 否则保温期间反应体系的水分会蒸发, 严重影响反应效率。
5. 结果分析: 实验有效性判定。如果两个阳性对照能够得到标准的S型扩增曲线而两个阴性对照都没有扩增, 则实验有效, 才有必要对样品进行分析。如

果阳性对照没有出现S型扩增曲线，则说明试剂盒可能失效，实验无效。如果阴性对照有S型扩增曲线，则说明环境或试剂有污染，实验无效。遇到实验无效的情况，请跟厂家客户联系，分析原因后再恢复实验。

6. 如果实验有效，则分析样品。凡是有S扩增曲线的，可以判断为阳性。凡是没S扩增曲线的，可以判断为阴性。典型的荧光检测结果见下图。左边为阳性结果，扩增曲线为S型，右边为阴性结果，扩增曲线不呈S型。



关联产品

LAMP 专用荧光染料