

天
净
沙
系
列

CAT#:211220-50
低温运输, -20°C保存

BINGENE

4 × LAMP MasterMix (电泳法)

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>4×LAMP MasterMix 含有 LAMP 扩增所需的所有成分，可以用于 LAMP 等温扩增。LAMP 即 Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification (逆转录-环介导等温扩增)，它利用 4 条模板专一的特异引物、逆转录酶和具有链置换能力的 Bst DNA 聚合酶 2.0(8U/uL)，在等温条件下(65℃左右) 30–60 分钟完成逆转录和 LAMP 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。本试剂盒具有下列特点：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 即开即用，含有红色电泳示踪剂，扩增后可以直接上样，不需要上样液。 2. 4×浓度，提供更多的加样品的空间，可以增加检测机率。 3. 高特异性，精心优化的配方，非特异扩增比自配的试剂更低。 4. 高扩增效率，一般比 PCR 灵敏一个数量级。 5. 65℃左右等温扩增，不需要贵重仪器。 6. 本试剂盒足够 50 次 20uL 体系的 LAMP 扩增。 7. 提供扩增对照，便于在遇到困难时分析原因。 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>包装材料</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>4×LAMP MasterMix (含电泳示踪剂，待加酶)</td> <td>211220a</td> <td>200uL</td> <td>0.5mL 白盖管</td> </tr> <tr> <td>Bst DNA 聚合酶 2.0(8U/uL)</td> <td>11-220319</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>210801</td> <td>50uL</td> <td>0.5mL 蓝盖管</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>211220sc</td> <td>1 份</td> <td>无</td> </tr> </tbody> </table>				成份	编号	规格	包装材料	4×LAMP MasterMix (含电泳示踪剂，待加酶)	211220a	200uL	0.5mL 白盖管	Bst DNA 聚合酶 2.0(8U/uL)	11-220319	50uL	0.5mL 红盖管	阳性对照模板-引物混合物	210801	50uL	0.5mL 蓝盖管	使用手册	211220sc	1 份	无
成份	编号	规格	包装材料																					
4×LAMP MasterMix (含电泳示踪剂，待加酶)	211220a	200uL	0.5mL 白盖管																					
Bst DNA 聚合酶 2.0(8U/uL)	11-220319	50uL	0.5mL 红盖管																					
阳性对照模板-引物混合物	210801	50uL	0.5mL 蓝盖管																					
使用手册	211220sc	1 份	无																					
<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>DNA 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各种引物母液和超纯水，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。

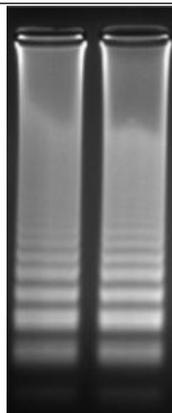
引物名称	母液浓度	加母液量	在5×LAMP引物混合液中的浓度
FIP 引物	100 uM	80 uL	8 uM
BIP 引物	100 uM	80 uL	8 uM
F3 引物	100 uM	10 uL	1 uM
B3 引物	100 uM	10 uL	1 uM
Loop F	100 uM	20 uL	2 uM
Loop B	100 uM	20 uL	2 uM
超纯水		780 uL	
终体积		1 mL	

注：如果没有Loop引物，则用超纯水补足其体积。

- 在冰上融化4×LAMP MasterMix（待加酶），混匀，稍离心。第一次使用时，请将50uL Bst DNA聚合酶2.0(8U/uL)全部加入到4×LAMP MasterMix中并轻柔混匀至少1分钟，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
4×LAMP MasterMix (加酶后)	5 uL	5uL	5 uL
自备的 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	1-9 uL	不加	不加
补自备超纯水到	20 uL	20 uL	20 uL

- 混匀，置于65℃保温60分钟。如果是在PCR仪中保温，必须加热盖。如果用金属浴或水浴保温，没有热盖，必须覆盖50uL的自备石蜡油，否则保温期间反应体系的水分会蒸发，会严重影响反应效率。
- 扩增结束后取5-10uL扩增产物直接上样（本产品含有红色电泳示踪剂，不需要再加上样液，红色示踪剂的泳动速度相当于50bp的DNA）进行2-3%的琼脂糖凝胶电泳，有LAMP扩增的样品将可见LAMP特征性DNA梯度电泳图谱（见下图）：



6. 结果分析：如果本试剂盒提供的阳性对照-引物混合物能够扩增而阴性对照不能扩出，则实验有效。如果阳性对照-引物混合物没有扩增出条带，则试剂盒的问题，请跟厂家联系。如果阴性对照（水作为模板）有扩增出条带，则说明LAMP样品或试剂有过去的扩增产物的污染，需要注意操作的规范性，如果不能解决，可以重新设计LAMP引物扩增新的靶片段。

关联产品

LAMP 专用荧光染料