

天
净
沙
系
列

CAT#:211226-50

第 1 部分：常温运输和保存

第 2 部分：低温运输，-20℃保存

BINGENE

免提取 LAMP 试剂盒（可视染料法）

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

产品及特点	本产品是 4×LAMP MasterMix（可视染料法）和免提取样本 DNA 释放剂的组合。前者含有可视化 LAMP 扩增所需的所有成分，可以用于可视化 LAMP 等温扩增。免提取样本 DNA 释放剂可用于处理各种样品，直接不经过提取直接用于 PCR 或 LAMP 扩增。本试剂盒具有下列特点： 1. 即开即用，用户不需要单独准备每个成分。 2. 不需要单独进行核酸纯化,LAMP 扩增后可以直接肉眼观察,不需任何设备。 3. 高特异性，精心优化的可视化 LAMP MasterMix 配方，非特异扩增比自配的 LAMP 试剂更低。 4. 4×MasterMix，比对应的 2×MasterMix 能使用能多的扩增模板。如果样品没有抑制物，最多可使用 11uL 进行扩增，降低漏检的机率。 5. 高扩增效率，一般比 PCR 灵敏一个数量级。 6. 本试剂盒足够 50 次免提取样本处理和 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。																																							
规格及成分	免提取 LAMP 试剂盒第 1 部分，编号 211226pt1，规格 50 次，5 孔盒包装，常温运输和保存。 <table><tr><th>成 份</th><th>编 号</th><th>规 格</th><th>包 装</th></tr><tr><td>免提取 DNA 模板制备溶液 A 成分 1</td><td>210904a1</td><td>0.1 mL</td><td>0.5 mL 白盖管</td></tr><tr><td>免提取 DNA 模板制备溶液 A 成分 2</td><td>210904a2</td><td>0.1 mL</td><td>0.5 mL 紫盖管</td></tr><tr><td>免提取 DNA 模板制备溶液 B</td><td>210904b</td><td>0.5 mL</td><td>0.5 mL 绿色盖</td></tr></table> 免提取 LAMP 试剂盒第 2 部分：编号 211226pt2，规格 50 次，5 孔盒包装，低温运输，-20℃保存。 <table><tr><th>成 份</th><th>编 号</th><th>规 格</th><th>包 装</th></tr><tr><td>4×LAMP MasterMix（可视染料法，待加酶）</td><td>211221a</td><td>200uL</td><td>0.5mL 黄盖管</td></tr><tr><td>Bst DNA 聚合酶</td><td>211202b</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>211202c</td><td>50uL</td><td>0.5mL 蓝盖管</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>211226sc</td><td>1 份</td><td></td></tr></table>				成 份	编 号	规 格	包 装	免提取 DNA 模板制备溶液 A 成分 1	210904a1	0.1 mL	0.5 mL 白盖管	免提取 DNA 模板制备溶液 A 成分 2	210904a2	0.1 mL	0.5 mL 紫盖管	免提取 DNA 模板制备溶液 B	210904b	0.5 mL	0.5 mL 绿色盖	成 份	编 号	规 格	包 装	4×LAMP MasterMix（可视染料法，待加酶）	211221a	200uL	0.5mL 黄盖管	Bst DNA 聚合酶	211202b	50uL	0.5mL 红盖管	阳性对照模板-引物混合物	211202c	50uL	0.5mL 蓝盖管	使用手册	211226sc	1 份	
成 份	编 号	规 格	包 装																																					
免提取 DNA 模板制备溶液 A 成分 1	210904a1	0.1 mL	0.5 mL 白盖管																																					
免提取 DNA 模板制备溶液 A 成分 2	210904a2	0.1 mL	0.5 mL 紫盖管																																					
免提取 DNA 模板制备溶液 B	210904b	0.5 mL	0.5 mL 绿色盖																																					
成 份	编 号	规 格	包 装																																					
4×LAMP MasterMix（可视染料法，待加酶）	211221a	200uL	0.5mL 黄盖管																																					
Bst DNA 聚合酶	211202b	50uL	0.5mL 红盖管																																					
阳性对照模板-引物混合物	211202c	50uL	0.5mL 蓝盖管																																					
使用手册	211226sc	1 份																																						
运输及保存	第 1 部分常温运输和保存，第 2 部分低温运输，-20℃保存。有效期一年。																																							
自备试剂	超纯水、LAMP 模板、LAMP 引物																																							
使用方法	1. 打开金属浴或 PCR 仪，把温度调到 95℃。 2. 配制 1mL 工作液（足够 10 个样品，如果样品不止 10 个，需要按比例增																																							

加): 在一干净的 1.5mL 自备塑料离心管中加入 10uL 免提取模板制备溶液 A 成分 1, 20uL 免提取模板制备溶液 A 成分 2 和 970uL 超纯水, 充分混合均匀待用。溶液 A 工作液可室温放置, 但最好在一周内用完。

3. 标记 10 个 PCR 管 (方便后续用 PCR 仪加热保温), 分别加入 100 uL 上步所配制的溶液 A 工作液。
4. 参考下表在管中加入待处理样品。如果是固体样品, 需要确保固体样品被溶液 A 工作液淹埋, 如果是液体样品则震荡混匀即可。动物组织 1-5 mg、鼠尾 2mm、血液样品不超过 20 uL、植物叶片 1-5 mg、植物种子 1-5 mg、0.2-0.5mL 微生物培养物离心所得的沉淀、血清血浆等蛋白浓度高的液体样品 10-30 uL、其他液体样品 (如保存液中的病毒样品) 50-100 uL。对上表未列出的样品, 用户需要自己摸索最佳用量。对富含多酚的植物材料 (如棉花), 使用量最好不要超过 0.5mg。
5. 在金属浴或 PCR 仪上 95℃ 保温 10 分钟。
6. 待冷却到常温。
7. 每个管中加入 10uL 溶液 B 并轻柔吹打混匀得 DNA 释放液。这些 DNA 释放液足够进行 50-100 次 PCR 或 LAMP 扩增。
8. 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标准所标注的母液浓度, 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	

