

Superbrilliant[®] LAMP 扩增检测试剂盒（基于羟基萘酚蓝变色指示）**Superbrilliant[®] LAMP Amplification detection Kit (Based on HNB Color change)****Cat.No.: ZS-M17001 Size: 50 T**

组分名称	数量
2×HNB LAMP Mix	0.65 ml
5 M Betain	1 ml
Bst 2.0 DNA Polymerase	50 μ l

储存: -20℃可保存 3 年。

简介: Bst DNA 聚合酶是 *Bacillus stearothermophilus* DNA 聚合酶的一部分, 具有很强的链置换活性, 以及 5'→3' 的 DNA 聚合酶活性, 因此可以应用于 LAMP (Loop-mediated isothermal amplification) 检测实验。LAMP 是一种新型核酸扩增技术。采用 4 或 6 条能够识别目的基因上的 6 个特异区域的引物, 依赖与 Bst DNA 聚合酶的强链置换活性, 在 30~60 分钟内 DNA 扩增可达 $10^9\sim 10^{10}$ 倍。该试剂盒配备变色反应指示剂, 其含有羟基萘酚蓝 (HNB) 指示染料, 阳性扩增样品的颜色由紫罗兰色变为天蓝色。

反应实例

1. 按以下组分配置反应混合液

2×HNB LAMP Mix	12.5μl
10×LAMP Primer Mix	2.5 μl
5M Betain	0~4μl
模板 DNA	Xμl
Bst2.0 DNA Polymerase	1 μl
ddH ₂ O	Up to 25μl

2. 反应体系配好后, 充分混匀并短暂离心, 置于 60~68°C 进行反应, 分别于 30min、45min、60min 观察颜色变化。必要时 85°C 热失活 5min (可选)。

LAMP 实验的条件优化

(1) 10×LAMP Primer Mix 配置

	浓度	首次实验浓度	引物储液浓度
FIP	8~16 μM	8,12,16 μM	100 μM
BIP	8~16 μM	8,12,16 μM	100 μM
Loop F	2~8 μM	2,4,8 μM	100 μM
Loop R	2~8 μM	2,4,8 μM	100 μM
F3	0.5~2 μM	0.5,1,2 μM	100 μM
B3	0.5~2 μM	0.5,1,2 μM	100 μM

(2) Betain 使用浓度

测试浓度	5M Betain25 μl 体系添加量
0 M	0 μl
0.25 M	1.25 μl
0.4 M	2 μl
0.6 M	3 μl
0.8M	4 μl

(3) HNB LAMP 对照设置

	颜色对照	阴性对照	实验样品
ddH ₂ O	✓	✓	✓
HNB LAMP Mix	✓	✓	✓
LAMP Primer Mix	✓	✓	✓
5M Betain	可选	可选	可选
模板 DNA	✓	✗	✓
Bst2.0	✗	✓	✓

(4) 反应温度设置

通常反应温度为 65°C，由于引物的效率差异，可在 60、63、65、68°C 进行适当调整。首次实验建议采用 60、65°C。

注意事项

- (1). 为了减少交叉污染，请分区操作（试剂和模板 DNA 的配置操作最好在不同区域中进行）。
- (2). 实验时，所需模板量取决与样品类型（0.1ng~100ng），可先进行预实验确定模板量。
- (3). 各区物品均为专用，不可交叉使用，防止污染。
- (4). 实验过程中应穿工作服，带手套，建议使用带滤芯的一次性吸嘴。