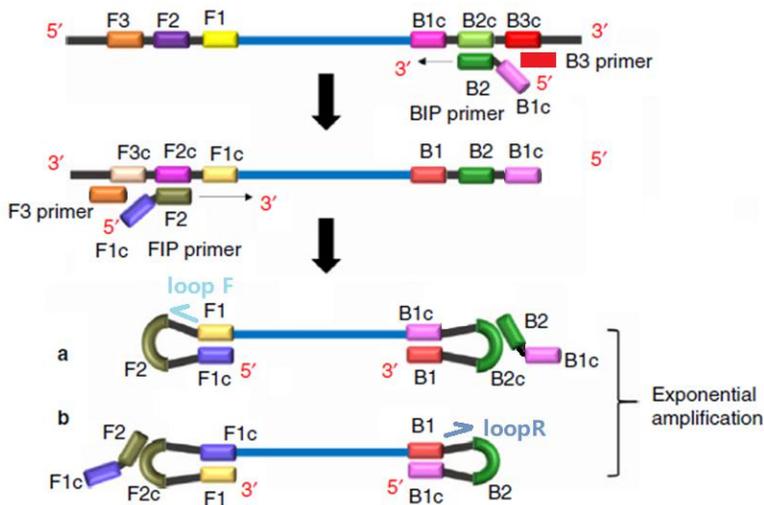


Component	LAMP53A	LAMP53B
RT-LAMP紫-橙变色法恒温扩增试剂盒(2×Mix)	1ml	1ml×5
Nuclease-free Water	1ml	5ml

产品说明：

本产品RT-LAMP紫-橙变色法恒温扩增试剂盒为2×Mix形式，内含RT-LAMP的所有基础组分，包括Bst DNA聚合酶大片段、反转录酶RT2.0、dNTPs、优化的反应缓冲液，只需加入模板和引物即可进行反应，是RT-LAMP反应的专用预混液。可用于RNA分子的等温扩增检测，检测样本类型包括长度大于220bp的各种RNA分子。RT-LAMP反应时，只需加入模板、引物和水，使2×Mix溶液的浓度为1×即可进行反应。核心组分Bst DNA聚合酶具有特异性强、检测灵敏度高、扩增产量高等诸多优点。专门针对LAMP进行了Buffer优化，非常适合于进行高特异性、高灵敏度LAMP等温核酸检测。体系中含有显色剂，扩增DNA后溶液由紫红色变成橙色。

LAMP是一种不依赖于PCR热循环仪的DNA扩增技术，需要3对引物进行扩增反应，其中一对引物能够形成颈环结构，进行DNA的持续扩增。扩增原理如下：



loopB与loopF非必需，其最终延伸产物为没有loop结构的3'末端，不能自我primer，仅能一定程度上扩增一对loopF与loopR配对区之间的线性化片段

特点：

- RT-LAMP扩增成功后溶液由紫色变成橙色，通过颜色变化及变化程度可以判定扩增效果。
- 不依赖于PCR，在加热器上进行恒温扩增。
- 2×Mix形式，减少LAMP操作时间，避免因多步操作带来的污染。
- Bst DNA聚合酶大片段经过了改造，非特异性扩增导致的假阳性信号低。
- 优化型Buffer，扩增效率高、稳定性好。

适用范围：

LAMP等温核酸扩增检测。

保存：

4度保存1个月；-20℃保存1年。

注意事项:

- 本公司反转录酶RT2.0不能耐受65度，需要在45-55反转录10分钟，不能直接65度一步反应。
- 本品在4度保存1个月内稳定，尽量避免反复冻融，以免造成酶活下降。如每次使用量较少，推荐小份分装使用。
- 使用前请上下颠倒以混匀Master Mix，短暂低速离心后即可使用。请勿vortex避免酶失活，影响定量结果。
- 加样过程中轻柔吹打，如果操作不慎导致SuperMix起泡，需离心方可使用。
- 为了防止环境DNA的污染，反应体系配制时请于超净工作台内进行，配制过程中请使用灭菌枪头、反应管。
- 由于本品检测灵敏度极高，易被空气中气溶胶污染。因此如经常检测某些特定基因，为了避免气溶胶污染，建议使用本公司UDG型RT-LAMP紫-橙变色法恒温扩增产剂盒2×Mix (LAMP63)。

应用举例:

以下为 50 μl 标准 RT-LAMP 体系，仅供参考。可根据模板、引物、目的片段大小加以优化反应条件。

1. 在0.2ml PCR管中配制如下混合液

Component	Volume	Final Concentration
RT-LAMP紫-橙变色法等温扩增2×Mix	25μl	1×
引物 FIP	4μl	0.8μM
引物 BIP	4μl	0.8μM
引物 F3	1.0μl	0.2μM
引物 B3	1.0μl	0.2μM
引物 loop-F	1.5μl	0.3μM
引物 loop-R	1.5μl	0.3μM
Template	Variable	as required
dd H2O	Variable	-
Total volume	50μl	-

2. 现在45-55度温育5-10分钟。

3. 在65度温育15-2小时。

4. 肉眼观测颜色变化。

5. 可通过1-1.5%琼脂糖凝胶电泳进一步观测扩增结果，确定是否扩增出了不同长度产物组成的典型DNA ladder。

LAMP实验注意事项

- 本应用举例中的3对引物的终浓度为经典值，一般可得到较好的扩增效果。当扩增效果不理想时，可以调整引物浓度。
- LAMP灵敏度极高，对于高浓度模板，推荐将模板梯度稀释后加入反应体系中，以有效提高实验的准确性。
- LAMP引物设计是否恰当对成功扩增出DNA ladder至关重要，若扩增失败，可重新设计引物。
- 本2×Mix 含有1.2mM dNTP。另外，dNTP终浓度可以根据不同实验需要，在0.4mM-1.6mM之间进行优化。
- 本2×Mix含有Bst DNA polymerase，因此配制好反应混合液后，不可以再进行95度加热5min，变性DNA模板的操作。
- 若需要把不含Bst DNA聚合酶的反应混合液先在95度加热5min变性DNA模板，放冰上5min进行引物退火，然后再加入Bst DNA polymerase 进行扩增反应；请购买本公司产品Bst DNA聚合酶卡比酶 (AF0605)。