天净沙系列

CAT#:211220

低温运输，-20℃保存

天净沙

4×LAMP MasterMix（电泳法）

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

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 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 2.0(8 U/μL)，在等温条件下(65℃左右) 30－60 分钟完成 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：

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 20 μL 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

本产品采用塑料袋包装

成分	编号	规格	包装
4×LAMP MasterMix （含电泳示踪剂，待加酶）	211220a	200 μL	0.5 mL 白盖管
Bst DNA 聚合酶 2.0(8 U/μL)	220319	50 μL	0.5 mL 红盖管
阳性对照模板-引物混合物	210801	50 μL	0.5 mL 蓝盖管
使用手册	211220sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效期一年。

自备试剂

DNA 模板、LAMP 引物

使用方法

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1 mL的5×LAMP引物混合液，此混合液足够250次20 μL体系的LAMP扩增。如果需要配制的5×LAMP引物混合液体积异于1 mL，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。

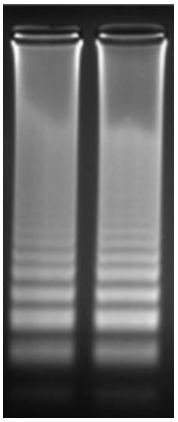
引物名称	母液浓度	加母液量	在5×LAMP引物混合液中的浓度
FIP 引物	100 μM	80 μL	8 μM
BIP 引物	100 μM	80 μL	8 μM
F3 引物	100 μM	10 μL	1 μM
B3 引物	100 μM	10 μL	1 μM
Loop F	100 μM	20 μL	2 μM
Loop B	100 μM	20 μL	2 μM
超纯水		780 μL	
终体积		1 mL	

注：如果没有Loop引物，则用超纯水补足其体积。

3. 在冰上融化4×LAMP MasterMix（待加酶），混匀，稍离心。第一次使用时，请将50 μL Bst DNA聚合酶2.0(8 U/μL)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 μL	5μL	5 μL
自备的 5×LAMP 引物混合液	4 μL	不加	4 μL
阳性对照模板-引物混合物	不加	4 μL	不加
自备模板 DNA	1-9 μL	不加	不加
补自备超纯水到	20 μL	20 μL	20 μL

4. 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50 μL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。
5. 扩增结束后取5-10 μL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50 bp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

20230228jz