天净沙系列

CAT#:220303

低温运输，-20℃保存

天净沙

# 4×LAMP MasterMix（探针法）

# 4×LAMP Probe MasterMix

使用手册 V1.01

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（探针法）含有荧光探针 LAMP 扩增所需的所有成分，可以对靶片段进行实时定量 LAMP 分析。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，在等温条件下（65℃左右）30－60 分钟完成扩增。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。目前已成功应用于核酸的快速检测，广泛用于各个领域。本试剂盒具有下列特点：

1. 即开即用，含有本公司开发的 LAMP 专用荧光探针，专一性强。
2. 在荧光定量 PCR 仪器上进行扩增时，可以实时跟踪扩增过程，但不宜用于定量（这是 LAMP 技术决定的）。
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. 高灵敏度，一般比 PCR 灵敏高一个数量级（取决于引物的筛选）。
5. 4×MasterMix，最多可加入 14 μL 模板，降低漏检率。
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

本产品使用 5 孔盒包装

| 成份 | 编号 | 规格 | 包装 |
|---|---|---|---|
| 4×LAMP MasterMix（探针法，待加酶） | 220303a | 200 μL | 0.5mL 绿盖管 |
| Bst DNA 聚合酶 2.0 | 11-220319 | 50 μL | 0.5mL 红盖管 |
| LAMP 阳性对照模板-引物混合物 | 220402 | 50 μL | 0.5mL 黄盖管 |
| 使用手册 | 220303sc | 1 份 | 1 份 |

## 运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效期一年。

## 自备试剂

LAMP 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. 配制自备的20×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0.1 mL的20×LAMP引物混合液，此混合液足够100次20 μL体系的LAMP扩增。如果需要配制的20×LAMP引物混合液体积异于0.1 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20×LAMP引物混合液中的浓度 |
|---|---|---|---|
| FIP 引物 | 100 μM | 32 μL | 32 μM |
| BIP 引物 | 100 μM | 32 μL | 32 μM |
| F3 引物 | 100 μM | 4 μL | 4 μM |
| B3 引物 | 100 μM | 4 μL | 4 μM |
| Loop F | 100 μM | 8 μL | 8 μM |
| Loop B | 100 μM | 8 μL | 8 μM |
| 超纯水 | | 12 μL | |
| 终体积 | | 0.1 mL | |

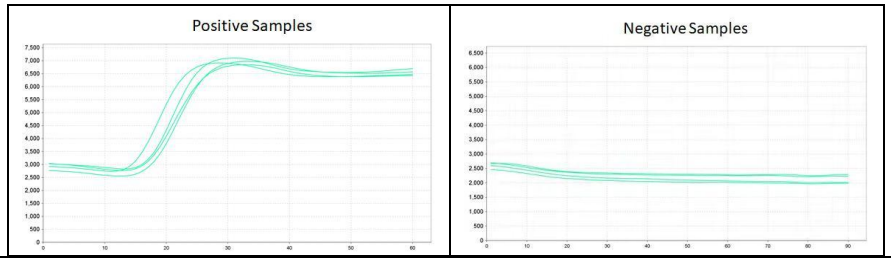
注：如果没有Loop引物，则用水替代。

3. 在冰上融化4×LAMP MasterMix（探针法，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全部加入到4×LAMP MasterMix中轻柔混匀，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（探针法，加酶后） | 5 μL | 5 μL | 5 μL |
| 自备 20×LAMP 引物混合液 | 1 μL | 不加 | 1 μL |
| LAMP 阳性对照模板-引物混合物 | 不加 | 5 μL | 不加 |
| 自备模板 DNA | 1-14 μL | 不加 | 不加 |
| 补自备超纯水到 | 20 μL | 20 μL | 20 μL |

4. 混匀，置于荧光定量PCR仪器中65℃保温60分钟，每分钟采集一次SYBR通道的荧光信号。如果荧光定量PCR仪不能设置恒温扩增参数，可以把变性复性和扩增三个温度都设置为65℃，三个步骤的总时间为1分钟即可，共60个循环，在任何一步采集荧光信号即可。

5. 结果分析：实验有效性判定。如果两个阳性对照能够得到标准的S型扩增曲线而两个阴性对照都没有扩增，则实验有效，才有必要对样品进行分析。如果阳性对照没有出现S型扩增曲线，则说明试剂盒可能失效，实验无效。如果阴性对照有S型扩增曲线，则说明LAMP引物设计得不好，有非特异扩增，需要重新优化引物。也可能是环境或试剂有污染，实验无效。遇到实验无效的情况，请跟厂家客户联系，分析原

| | |
|---|---|
| | 因后再恢复实验。<br>6. 如果实验有效，则分析样品。凡是有S扩增曲线的，可以判断为阳性。凡是没有S扩增曲线的，可以判断为阴性。典型的荧光检测结果见下图。左边为阳性结果，扩增曲线为S型，右边为阴性结果，扩增曲线不呈S型。<br> |
| **关联产品** | LAMP 饱和荧光染料 |