

天
净
沙
系
列

CAT#:100203A-50

100203B-50

低温运输, -20℃保存

TIANDZ

通用型 LAMP 试剂盒

Basic LAMP Amplification Kit

使用手册 V2.1

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

<p>产品及特点</p>	<p>本产品是 2 × LAMP MagicMix，可以用于 LAMP 等温扩增，LAMP 即 Loop-Mediated Isothermal Amplification（环介导等温扩增），是 2000 年才出现的一种新颖的等温核酸扩增方法。它利用 4 条模板专一的特异引物和具有链置换能力的 DNA 聚合酶，在等温条件下(63℃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 PCR 技术，同时还不需要模板的热变性、温度循环、电泳及紫外观察等过程，不依赖任何专门的仪器设备。目前已成功应用于人类及动植物、细菌、病毒、寄生虫、真菌等病原体的快速检测。本试剂盒具有下列特点：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 即开即用的 2 × LAMP MagicMix，A 型含有红色电泳示踪剂，扩增后可以直上样，不需要上样液。 2. 高特异性，由于同时使用 4-6 条特异引物，所以特异性比 PCR 更高。 3. 高扩增效率，扩增效率可达到 10E9-10E10，比 PCR 灵敏一个数量级，可检测到单拷贝的 DNA 分子 4. 65℃左右等温扩增，可以不需要贵重的热循环仪。 5. 即开即用，包含了除引物和模板 DNA 外的所有成份，十分方便。 6. 肉眼检测扩增结果，不需要昂贵的电泳、荧光 PCR 等仪器。 7. 本试剂盒足够 50 次 20μL 体系的 LAMP 扩增。 8. 提供扩增对照，便于在遇到困难时分析原因。 9. 本产品只能用于科研，不能用于临床。 																								
<p>规格及成分</p>	<p>注：本产品 A 型（100203A）中加入了专用示踪染料。</p> <table border="1" data-bbox="512 1386 1425 1641"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>热封袋包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2 × LAMP MagicMix，含示踪染料</td> <td>100203a</td> <td>500 μL (绿色盖)</td> </tr> <tr> <td>LAMP 阳性对照模板-引物混合物</td> <td>130923a</td> <td>45 μL (黄色盖)</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>100203sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table> <p>本产品 B 型（100203B）中没有加入示踪染料。</p> <table border="1" data-bbox="512 1704 1425 1960"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>热封袋包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2 × LAMP MagicMix，不含示踪染料</td> <td>100203b</td> <td>500 μL (绿色盖)</td> </tr> <tr> <td>LAMP 阳性对照模板-引物混合物</td> <td>130923a</td> <td>45 μL (黄色盖)</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>100203sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>	成份	编号	热封袋包装	2 × LAMP MagicMix，含示踪染料	100203a	500 μL (绿色盖)	LAMP 阳性对照模板-引物混合物	130923a	45 μL (黄色盖)	使用手册	100203sc	1 份	成份	编号	热封袋包装	2 × LAMP MagicMix，不含示踪染料	100203b	500 μL (绿色盖)	LAMP 阳性对照模板-引物混合物	130923a	45 μL (黄色盖)	使用手册	100203sc	1 份
成份	编号	热封袋包装																							
2 × LAMP MagicMix，含示踪染料	100203a	500 μL (绿色盖)																							
LAMP 阳性对照模板-引物混合物	130923a	45 μL (黄色盖)																							
使用手册	100203sc	1 份																							
成份	编号	热封袋包装																							
2 × LAMP MagicMix，不含示踪染料	100203b	500 μL (绿色盖)																							
LAMP 阳性对照模板-引物混合物	130923a	45 μL (黄色盖)																							
使用手册	100203sc	1 份																							
<p>运输及保存</p>	<p>低温运输，-20℃保存，有效期一年。</p>																								
<p>自备试剂</p>	<p>LAMP 模板、LAMP 引物、自备可见光染料</p>																								

使用方法

1. 制备模板DNA：选用合适的方法制备模板DNA。
2. 配制自备的5×LAMP引物混合液。

先加超纯水或自备TE缓冲液将自备的下列6种（或4种）引物干粉稀释到母液浓度，然后在一新的离心管中按表中所示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20μL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 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	如果没有 Loop 引物，则用水替代
终体积		1 mL	

3. 在冰上融化2×LAMP MagicMix，混匀，稍离心。如果有N个样品，则在N+2个反应管中加入以下组份：

成份	样品管	LAMP 阳性对照	LAMP 阴性对照
2×LAMP MagicMix	10 μL	10 μL	10 μL
自备 5×LAMP 引物混合液	4 μL	-	4 μL
自备模板 DNA	1-100ng	-	-
LAMP 阳性对照模板-引物混合物	-	4 μL	-
补自备超纯水到	20 μL	20 μL	20 μL

注意：此步可加入自备的各种LAMP可视化染料，这样反应结束后可以根据反应液的颜色变化或实时荧光强度变化来判断是否有扩增，不需要开盖，避免污染。如果加入了荧光染料，则需要在荧光定量PCR仪上进行反应和实时检测。

4. 混匀，置于63℃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50μL的石蜡油，否则保温期间

	<p>反应体系的水分会蒸发，影响反应效率。</p> <p>5. 产物取扩增产物5 μL直接上样（本产品A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50bp的DNA）进行2-3%的琼脂糖凝胶电泳，可见LAMP特征性电泳图谱。</p> <p>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，可以重新设计引物扩增新的靶片段。也可以使用不需要开盖的2×可视化LAMP MagicMix。</p>
<p>注意事项</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 引物设计对成功扩增十分关键，尽量以保守区设计引物。 2. 引物至少包括 F3/B3 和 FIP/BIP，加入环状引物 F loop/B loop 可以使反应速度大大提高。 3. 应优化引物序列、GC 含量和尽量避免二级结构。 4. LAMP 扩增具有特异性好、灵敏度高、时间快、不需要特殊仪器设备等优点。但太高的灵敏度使得其比普通 PCR 扩增更加容易污染导致假阳性。因此，必须高度重视扩增产物的污染。常规措施包括严格的实验分区、使用荧光定量等不开盖检测方法。实验室一旦遭到污染，很难去除，最好重新设计引物扩增新的靶片段。 5. 要确证扩增的为目标基因，可以使用特定的限制性酶切和 / 或 Southern 杂交。
<p>关联产品</p>	<p>LAMP 可视化染料 A 型(CAT#:130833)</p>