

天
净
沙
系
列

CAT#:180601-50
低温运输, -20℃保存

TIANDZ

可视化 LAMP 试剂盒

Colorimetric LAMP Kit

使用手册 V1.0

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

产品及特点	本试剂盒是本公司通用型 LAMP 试剂盒的升级版，它有下列特点： 1. 将可视化 LAMP 染料和 Bst DNA 聚合酶整合到 2×LAMP MagicMix 中，减少了加样操作，能降低操作误差。 2. 变色式可视化肉眼检测，不需要任何仪器即可肉眼判断是否有扩增。 3. 使用改良的温热启动 Bst DNA 聚合酶，该酶只有在 40℃ 以上时才有活性，反应特异性更强。 4. 改良的酶既可用于 DNA 为模板的 LAMP 扩增，也可用 RNA 模板的 RT-LAMP 扩增。 5. 高扩增效率更高，比 PCR 灵敏一个数量级，可检测到单拷贝的 DNA 分子。 6. 本试剂盒足够 50 次 20uL 体系的 LAMP 扩增，只可用于科研。			
规格及成分		成 份	编 号	十孔盒包装
		2×可视化 LAMP MagicMix	180601a	500 uL（绿盖）
		LAMP 阳性对照模板-引物混合物	130923a	45 uL（黄盖）
		超纯水	100935	1 mL（蓝盖）
		使用手册	180601sc	1 份
	免费赠送免 DNA 提取试剂盒试用装，足够处理 30 个样品。			
		成 份	编 号	十孔盒包装
		免 DNA 提取溶液 A 成分一	130985a1	30 uL（白盖）
		免 DNA 提取溶液 A 成分二	130985a2	60 uL（本色盖）
		免 DNA 提取溶液 B	130985b	300 uL（红盖）
运输及保存	低温运输，-20℃ 保存，免 DNA 提取试剂可以常温保存。有效期一年。本试剂盒中的 2×可视化 LAMP MagicMix 由于含有 Bst DNA 聚合酶，故不能反复冻融超过 10 次。如果需要反复冻融 10 次以上，建议收到货后立即分装，一次用其中一管，减少冻融次数。			
自备试剂	LAMP 模板、RT-LAMP 模板及 LAMP 引物			
使用方法	1. 制备DNA或RNA样品：用合适的DNA或RNA提取试剂盒提取样品DNA或RNA。本试剂盒含免DNA提取试剂盒试用装（足够处理30个样品）。具体操作见使用方法后的附录。 2. 配制自备的5×LAMP引物混合液。 先加超纯水（不要用TE）将各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列体积加入各种引物和超纯水，最后得到1mL的5×LAMP			

引物混合液。如果需要配制的5×LAMP引物混合液体积大于或小于1mL，则各成分的用量请按比例调整。此混合液可以在-20℃放置2年。

引物名称	母液浓度	加入量	在混合液中浓度
FIP 引物	100 uM	80 uL	8 uM
BIP 引物	100 uM	80 uL	8 uM
F3 引物	100 uM	10 uL	1 uM
B3 引物	100 uM	10 uL	1 uM
Loop F	100 uM	20 uL	2 uM
Loop B	100 uM	20 uL	2 uM
超纯水		780 uL	

3. 在新的反应管中设置LAMP反应（PC为阳性对照、NC1为不加模板阴性对照、NC2为不加引物阴性对照。注意：为便于可视化颜色比较，每次实验必须设置至少一个阴性对照。本试剂盒只提供LAMP的阳性对照模板，不提供RT-LAMP的阳性对照模板）：

成份	样品管	PC	NC1	NC2
2×可视化 LAMP MagicMix	10 uL	10 uL	10 uL	10 uL
自备 5×LAMP 引物混合液	4 uL	-	4 uL	-
自备模板 DNA 或 RNA	1-100ng	-	-	-
LAMP 阳性对照模板-引物混合物	-	4.5 uL	-	-
补超纯水到	20 uL	20 uL	20 uL	20 uL

4. 混匀，此时反应液呈现非常淡的蓝色。置于60-65℃保温60-120分钟（具体最佳温度跟用户设计的LAMP引物序列相关，一般选择63℃。如果是在PCR仪中保温，必须加热盖。如果用金属浴保温，没有热盖，建议覆盖30uL石蜡油，否则保温期间反应体系的水分会蒸发，影响反应效率）。
5. 80℃10分钟灭活Bst DNA聚合酶。
6. 观察实验结果。将反应管放置在白色背景前观察，观察反应液颜色。阳性对照（PC）将呈现淡蓝色，无模板和无引物阴性对照将呈现无色或非常浅的蓝色，样品管的颜色如果接近阳性对照则说明有扩增，如果接近阴性对照则说明无扩增。标准的反应结果如下图（左边为阴性，右边为阳性）：



7. 如果结果不明确，则需要电泳确认：取扩增产物5 uL跟上样液（loading buffer）混合后上样，出现LAMP特征性电泳图谱则表示有扩增。由于电泳需要打开反应管的盖子，非常容易污染实验环境，所以LAMP电泳区域必须跟反应设置区域分开。
8. 结果分析：如果阳性对照能够扩增而阴性对照不能扩出，则实验有效。如果阳性对照没有扩增出条带，则试剂盒的问题，请跟厂家联系。如果阴性对照出现扩增条带，则说明LAMP样品或试剂被上次扩增产物污染，需要注意操作的规范性，最好重新设计针对另一区域的新引物。

附录：免DNA提取操作步骤

1. 配制免 DNA 提取溶液 A 工作液 1mL（足够 10 个样品，如果待测样品数量为其他数字，各成份用量需要相应调整）：在一干净塑料管中加入 10uL 溶液 A 成分一，20uL 溶液 A 成分二和 970uL 超纯水，充分混合均匀即得 1mL 溶液 A 工作液。处理一个样品需要 100uL 溶液 A 工作液。没用完的溶液 A 工作液可室温放置，但最好在一周内用完，不要长期放置。
2. 对检测基因组 DNA，按参考下取样到一干净的塑料离心管中（对表中未列出的植物，用户需要自己摸索最佳用量）：

样品种类	取用量
动物组织	1-5 mg
鼠尾	2mm 长
血液样品	不超过 20 uL
植物叶片	1-5 mg, 多酚多醌植物不要超过 0.5mg
植物种子（去皮）	1-5 mg
细菌或酵母培养物	0.2-0.5mL 培养物的沉淀

3. 加入 100 uL 溶液 A 工作液，确保样品被溶液淹埋。95℃保温 10 分钟。
4. 待冷却到常温后加入 10uL 溶液 B 并混匀得细胞裂解液，放冰上待用。每次 LAMP 扩增取 1-2uL 细胞裂解液当模板即可。如果细胞裂解液暂时不用，可以放-20℃长期保存。

关联产品

荧光定量 LAMP 试剂盒