

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#:180703-50  
低温运输, -20℃保存

**TIANDZ**

## 可视化 UNG-LAMP 试剂盒

Colorimetric UNG-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](http://www.tiandz.com); 电话: 400-6765278; 电邮: [order@tiandz.com](mailto:order@tiandz.com)

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                         |           |        |      |     |           |        |        |       |      |        |        |       |      |       |        |       |      |       |        |       |      |        |        |       |      |        |        |       |      |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|-----------|--------|------|-----|-----------|--------|--------|-------|------|--------|--------|-------|------|-------|--------|-------|------|-------|--------|-------|------|--------|--------|-------|------|--------|--------|-------|------|
| 产品及特点                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 本试剂盒是本公司可视化 LAMP 试剂盒的升级版，它有下列特点：<br><br>1. 防污染,在 2×可视化 LAMP MagicMix 中整合了 dUTP-UNG 防污染系统，解决了 LAMP 扩增非常容易污染的这个棘手问题。<br><br>2. 可视化，整合了本公司的 A 型 LAMP 可见光染料，不需要任何仪器即可肉眼判断是否有扩增。<br><br>3. 使用改良的 Bst DNA 聚合酶,使本产品既可用 DNA 为模板于 LAMP 扩增，也可用 RNA 模板进行 UT-LAMP 扩增。DNA 聚合酶只有在 40℃以上时扩增才启动，反应特异性更强。<br><br>4. 扩增效率更高，扩增效率可达到上亿倍，比 PCR 灵敏一个数量级，可检测到单拷贝的 DNA 分子。<br><br>5. 本试剂盒足够 50 次 20uL 体系的可视化 UNG-LAMP 和 UNG-RT-LAMP 扩增。<br><br>6. 本试剂只能用于科研，不能用于临床。 |                         |           |        |      |     |           |        |        |       |      |        |        |       |      |       |        |       |      |       |        |       |      |        |        |       |      |        |        |       |      |
| 规格及成分                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 成 份                     | 编 号       | 塑料袋包装  |      |     |           |        |        |       |      |        |        |       |      |       |        |       |      |       |        |       |      |        |        |       |      |        |        |       |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 2×可视化 UNG-LAMP MagicMix | 180703a   | 500 uL |      |     |           |        |        |       |      |        |        |       |      |       |        |       |      |       |        |       |      |        |        |       |      |        |        |       |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 使用手册                    | 180703sc  | 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、RT-LAMP 模板及 LAMP 引物                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                         |           |        |      |     |           |        |        |       |      |        |        |       |      |       |        |       |      |       |        |       |      |        |        |       |      |        |        |       |      |
| 使用方法                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 1. 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下表所列母液浓度,然后在一新的离心管中按表中所列加入量加入各种引物母液和自备超纯水，最后得到1mL的5×LAMP引物混合液。如果不使用Loop引物，其体积由水填充如果需要配制的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。                                                                                                                                                                                                                                                        |                         |           |        |      |     |           |        |        |       |      |        |        |       |      |       |        |       |      |       |        |       |      |        |        |       |      |        |        |       |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                         |           |        |      |     |           |        |        |       |      |        |        |       |      |       |        |       |      |       |        |       |      |        |        |       |      |        |        |       |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                         |           |        |      |     |           |        |        |       |      |        |        |       |      |       |        |       |      |       |        |       |      |        |        |       |      |        |        |       |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                         |           |        |      |     |           |        |        |       |      |        |        |       |      |       |        |       |      |       |        |       |      |        |        |       |      |        |        |       |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                         |           |        |      |     |           |        |        |       |      |        |        |       |      |       |        |       |      |       |        |       |      |        |        |       |      |        |        |       |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                         |           |        |      |     |           |        |        |       |      |        |        |       |      |       |        |       |      |       |        |       |      |        |        |       |      |        |        |       |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                         |           |        |      |     |           |        |        |       |      |        |        |       |      |       |        |       |      |       |        |       |      |        |        |       |      |        |        |       |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                         |           |        |      |     |           |        |        |       |      |        |        |       |      |       |        |       |      |       |        |       |      |        |        |       |      |        |        |       |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                         |           |        |      |     |           |        |        |       |      |        |        |       |      |       |        |       |      |       |        |       |      |        |        |       |      |        |        |       |      |
| <table><tr><td>引物名称</td><td>母液浓度</td><td>加入量</td><td>在混合液中终于浓度</td></tr><tr><td>FIP 引物</td><td>100 uM</td><td>80 uL</td><td>8 uM</td></tr><tr><td>BIP 引物</td><td>100 uM</td><td>80 uL</td><td>8 uM</td></tr><tr><td>F3 引物</td><td>100 uM</td><td>10 uL</td><td>1 uM</td></tr><tr><td>B3 引物</td><td>100 uM</td><td>10 uL</td><td>1 uM</td></tr><tr><td>Loop F</td><td>100 uM</td><td>20 uL</td><td>2 uM</td></tr><tr><td>Loop B</td><td>100 uM</td><td>20 uL</td><td>2 uM</td></tr></table> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                         |           | 引物名称   | 母液浓度 | 加入量 | 在混合液中终于浓度 | 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 |
| 引物名称                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 母液浓度                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 加入量                     | 在混合液中终于浓度 |        |      |     |           |        |        |       |      |        |        |       |      |       |        |       |      |       |        |       |      |        |        |       |      |        |        |       |      |
| 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      |        |      |     |           |        |        |       |      |        |        |       |      |       |        |       |      |       |        |       |      |        |        |       |      |        |        |       |      |

|                    | <table><tr><td>自备超纯水</td><td></td><td>780 uL</td><td></td></tr></table>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 自备超纯水  |         | 780 uL |        |                    |       |       |       |                 |      |      |   |                |         |   |         |       |       |       |       |
|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|---------|--------|--------|--------------------|-------|-------|-------|-----------------|------|------|---|----------------|---------|---|---------|-------|-------|-------|-------|
| 自备超纯水              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 780 uL |         |        |        |                    |       |       |       |                 |      |      |   |                |         |   |         |       |       |       |       |
|                    | <p>2. 在新的反应管中设置UNG-LAMP或UNG-RT-LAMP反应：</p> <table><tr><th>成份</th><th>样品管</th><th>阴性对照 1</th><th>阴性对照 2</th></tr><tr><td>2×可视化 UNG-LAMP Mix</td><td>10 uL</td><td>10 uL</td><td>10 uL</td></tr><tr><td>自备 5×LAMP 引物混合液</td><td>4 uL</td><td>4 uL</td><td>-</td></tr><tr><td>自备模板 DNA 或 RNA</td><td>1-100ng</td><td>-</td><td>1-100ng</td></tr><tr><td>补超纯水到</td><td>20 uL</td><td>20 uL</td><td>20 uL</td></tr></table> <p>3. 混匀，此时反应液呈现非常浅的绿色，由于是否有反应是跟阴性对照和反应前对比，所以一定要设置阴性对照，并且反应前要手机照相留存以供反应后比对。</p> <p>4. 置于25℃5分钟（让UNG灭活可能的LAMP的污染），然后放63℃扩增60-120分钟（如果不使用Loop引物，则最好保温2小时）。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，必须在孔中加水以填充孔和管子间的空隙，并且在管中加50uL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）。</p> <p>5. 80℃10分钟灭活Bst DNA聚合酶和UNG酶。</p> <p>6. 如果有阳性扩增，则反应液将变成绿色，如果没有阳性扩增，反应液将还是浅绿色。标准的反应结果如下图（左边1个为阴性，右边2个为阳性）：</p> <div></div> <p>7. 如果需要电泳确认，则取扩增产物5 uL直接在2%的琼脂糖凝胶电泳（不需要再加上样液），可见LAMP特征性电泳图谱。一般不简易在开盖，这正式产生污染的原因。</p> | 成份     | 样品管     | 阴性对照 1 | 阴性对照 2 | 2×可视化 UNG-LAMP Mix | 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 | - | 1-100ng | 补超纯水到 | 20 uL | 20 uL | 20 uL |
| 成份                 | 样品管                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 阴性对照 1 | 阴性对照 2  |        |        |                    |       |       |       |                 |      |      |   |                |         |   |         |       |       |       |       |
| 2×可视化 UNG-LAMP Mix | 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                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | -      | 1-100ng |        |        |                    |       |       |       |                 |      |      |   |                |         |   |         |       |       |       |       |
| 补超纯水到              | 20 uL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 20 uL  | 20 uL   |        |        |                    |       |       |       |                 |      |      |   |                |         |   |         |       |       |       |       |
| 注意事项               | <p>1. 引物设计对 LAMP 成功扩增十分关键，尽量以保守区设计引物。</p> <p>2. 引物至少包括 F3/B3 和 FIP/BIP，加入环状引物 F loop/B loop 可</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |        |         |        |        |                    |       |       |       |                 |      |      |   |                |         |   |         |       |       |       |       |

|             |                                                                                                                                                                                    |
|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|             | <p>以使反应速度大大提高。</p> <p>3. 应优化引物序列、GC 含量和尽量避免二级结构。</p> <p>4. 要确证扩增的为目标基因,可以选择有特定的限制性酶切位点的靶分子或者在引物中的连接区加上限制性内切酶的识别位点,扩增结束后再用此其对应的限制性内切酶去酶切。如果能切开,则很可能是所选的靶分子。如果不能,则可能是非特异扩增或引物自扩。</p> |
| <b>关联产品</b> | Bst DNA 聚合酶(CAT#:100209)                                                                                                                                                           |

20180808dx