

天
净
沙
系
列

CAT#:180805-50
低温运输, -20℃保存

TIANDZ

免 DNA 提取可视化 LAMP 试剂盒

Direct 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

<p>产品及特点</p>	<p>本试剂盒是本公司通用型 LAMP 试剂盒的基础上开发的免 DNA 提取可视化 LAMP 试剂盒，它有下列特点：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 不需要专门提取 DNA，直接用细胞裂解液进行 LAMP，极大缩短了实验。 2. 适用于病毒、细菌、真菌、植物、动物的各种形式的样品，包括实体组织、液体样品。 3. 使用 2×可视化 LAMP MagicMix，可视化肉眼检测实验结果。 4. 使用改良的 WarmStart Bst DNA 聚合酶，反应特异性更强。 5. 高扩增效率更高，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。 6. 本试剂盒足够 50 次 20uL 体系的免 DNA 提取 LAMP 扩增。 7. 本产品只能用于科研目的。 																										
<p>规格及成分</p>	<table border="1" data-bbox="544 824 1394 1339"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>十孔盒包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>免 DNA 提取溶液 A 成分一</td> <td>130985a1</td> <td>100 uL</td> </tr> <tr> <td>免 DNA 提取溶液 A 成分二</td> <td>130985a2</td> <td>200 uL</td> </tr> <tr> <td>免 DNA 提取溶液 B</td> <td>130985b</td> <td>1 mL</td> </tr> <tr> <td>2×可视化 LAMP MagicMix</td> <td>180601a</td> <td>500 uL</td> </tr> <tr> <td>LAMP 阳性对照模板-引物混合物</td> <td>180601b</td> <td>50 uL</td> </tr> <tr> <td>超纯水</td> <td>100935</td> <td>1 mL</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>180601sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>			成份	编号	十孔盒包装	免 DNA 提取溶液 A 成分一	130985a1	100 uL	免 DNA 提取溶液 A 成分二	130985a2	200 uL	免 DNA 提取溶液 B	130985b	1 mL	2×可视化 LAMP MagicMix	180601a	500 uL	LAMP 阳性对照模板-引物混合物	180601b	50 uL	超纯水	100935	1 mL	使用手册	180601sc	1 份
成份	编号	十孔盒包装																									
免 DNA 提取溶液 A 成分一	130985a1	100 uL																									
免 DNA 提取溶液 A 成分二	130985a2	200 uL																									
免 DNA 提取溶液 B	130985b	1 mL																									
2×可视化 LAMP MagicMix	180601a	500 uL																									
LAMP 阳性对照模板-引物混合物	180601b	50 uL																									
超纯水	100935	1 mL																									
使用手册	180601sc	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 样品及 LAMP 引物</p>																										
<p>使用方法</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 配制免 DNA 提取溶液 A 工作液。以配制 1mL 工作液（足够 10 个样品）为例：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。一次检测一个样品需要 100uL 溶液 A 工作液，1mL 工作液足够 10 个样品。没用完的工作液可室温放置，但最好在一周内用完，不要长期放置。如果待测样品数量为其他数字，配制的溶液 A 工作液的体积需要做相应的调整。 2. 根据材料不同参考下表取少量样品到一干净的塑料离心管中。 <table border="1" data-bbox="659 1944 1279 2130"> <thead> <tr> <th>样品种类</th> <th>取用量</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>动物组织</td> <td>1-5 mg</td> </tr> <tr> <td>鼠尾</td> <td>2mm 长</td> </tr> </tbody> </table> 			样品种类	取用量	动物组织	1-5 mg	鼠尾	2mm 长																		
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
植物种子（去皮）	1-5 mg
酵母培养物	0.2-0.5mL 培养物沉淀
细菌培养物	0.2-0.5mL 培养物沉淀

注意：未列出样品，用户需要自己摸索最佳用量。对富含多醌多酚的植物材料（如棉花），组织使用量最好不要超过 0.5mg。

- 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。
- 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。如果暂时不用，可以放-20℃长期保存。
- 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示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	

- 在新的塑料管中设置 LAMP 反应（以一个样品为例）：

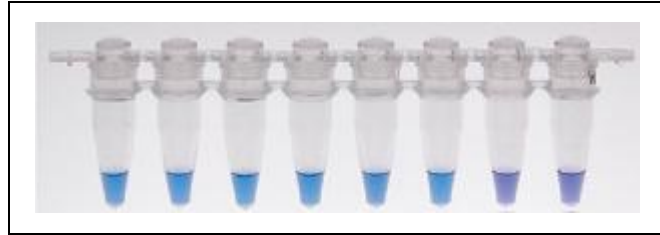
成份	样品管	阳性对照	阴性对照
2×可视化 LAMP Mix	10 uL	10 uL	10 uL
自备 5×LAMP 引物混合液	4 uL	-	4 uL
细胞裂解液	1-2 uL	-	-
LAMP 阳性对照模板-引物混合物	-	4 uL	-
补超纯水到	20 uL	20 uL	20 uL

- 混匀，此时反应液呈现淡紫色。置于 60-65℃保温 60-120 分钟（具体温

度根据 LAMP 引物的 T_m 值决定)。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 50 μ L 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。

9. 80 $^{\circ}$ C 10 分钟灭活 Bst DNA 聚合酶。

10. 如果有阳性扩增，则反应液将变成淡蓝色，如果没有阳性扩增，反应液将还是淡紫色。标准的反应结果如下图（左边 6 个为阳性，右边 2 个为阴性）：



11. 电泳确认：取扩增产物 5 μ L 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。电泳需要打开反应管的盖子，释放出的气溶胶非常容易污染实验环境，为下次扩增带来假阳性，所以一定要在隔离的地方进行电泳分析。

12. 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。如果阴性对照有扩增出条带，则说明 LAMP 样品或试剂有扩增产物的污染，需要注意操作的规范性，最好重新设计引物扩增新的靶片段。

关联产品

LAMP 可视化染料 A 型(CAT#:130833)