

等温扩增荧光检测试剂盒(LAMP/RT-LAMP法, 含UDG)

产品编号	产品名称	包装
D8014S	等温扩增荧光检测试剂盒(LAMP/RT-LAMP法, 含UDG)	25次
D8014M	等温扩增荧光检测试剂盒(LAMP/RT-LAMP法, 含UDG)	100次
D8014L	等温扩增荧光检测试剂盒(LAMP/RT-LAMP法, 含UDG)	500次

产品简介:

- 碧云天研发生产的等温扩增荧光检测试剂盒(LAMP/RT-LAMP法, 含UDG), 即Fluorescent LAMP/RT-LAMP Assay Kit with UDG, 是一种通过直接或反转录后环介导等温扩增(Loop Mediated Isothermal Amplification, LAMP)法扩增DNA, 并通过荧光定量PCR仪的荧光曲线来判断样品中是否含有目的DNA或RNA的试剂盒。本试剂盒中的Bst酶具有良好好的逆转录酶活性, 不仅可用于对DNA样品的检测也可以用于RNA样品的检测。本试剂盒采用了dU掺入和UDG酶, 能有效防止等温扩增产物污染导致的假阳性, 可快速、有效、高灵敏度地检测样品中的目的DNA或RNA。本试剂盒通过自行设计等温扩增引物, 可以用于检测样品中是否存在病原体、微生物等, 例如生物样品中是否存在特定病原体的感染或微生物的污染等。
- 等温扩增技术(Isothermal amplification technology)是核酸体外扩增技术, 其反应过程始终维持在一定的恒定温度下, 通过添加不同活性的酶和各自特异性引物进行核酸的快速扩增[1]。本试剂盒采用的是环介导核酸等温扩增技术(Loop-mediated isothermal amplification, LAMP), 其特点是针对靶基因的6个区域设计4-6条特异引物, 使用链置换DNA聚合酶(Bst DNA Polymerase)启动DNA的合成, 形成哑铃状互补链, 并进一步通过连续链置换进入循环扩增阶段, 扩增的最后产物是具有不同个茎环结构、多环花椰菜样结构的DNA的混合物。LAMP仅需在等温条件下(如60-65°C)保温30-60分钟, 即可完成核酸扩增反应。与常规PCR相比, LAMP不需要模板的热变性、温度循环、电泳及紫外观察等过程, 具有简单、快速、灵敏度高、特异性强等特点[2]。
- **本试剂盒灵敏度高, 反应时间短。**本试剂盒的灵敏度比传统的PCR方法高2-5倍, 通过阳性质粒计算检测下限约为20-200 copies/ μ l, 且仅需30-60分钟就能完成检测反应。本试剂盒用于阳性样品的检测效果参考图1。

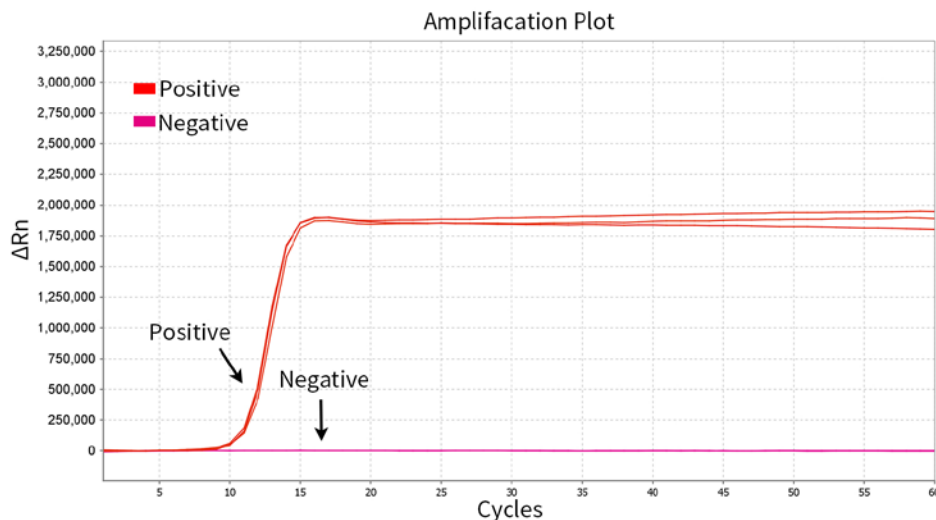


图1. 碧云天等温扩增荧光检测试剂盒(LAMP/RT-LAMP法, 含UDG) (D8014)的检测效果图。红色为阳性样品, 玫红色为阴性样品。实测数据可能会因样品、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- **本试剂盒采用防污染技术, 有效避免污染。**本试剂盒使用了dU和热敏型UDG酶, 可以使扩增产物中掺入dU并且在等温扩增前37°C孵育5-15分钟可有效消除等温扩增过程中带来的产物污染问题。在进行等温扩增时, 热敏型UDG酶会被失活, 从而不会干扰后续的等温扩增检测。
- 本试剂盒含Bst酶、UDG酶、PCR Buffer、dNTP、dUTP、SYBR Green染料, 只需加入适量特异引物、待测样品和水即可检测目的DNA/RNA。本试剂盒中的Bst酶具有良好的逆转录酶活性, 在60-65°C可高效合成cDNA, 因此对于RNA样品, 无需单独的逆转录步骤。
- 本试剂盒提供了阳性对照Positive Control, 可用于确定试剂盒是否能正常工作, 检测的目的DNA为GFP。阳性对照中包含了靶向GFP的相应检测引物和相应的GFP DNA。建议每次检测都设置阳性对照。
- 本产品如果用于常规的20 μ l反应体系, 小包装可以进行25次检测, 中包装可进行100次检测, 大包装可进行500次检测。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D8014S-1	LAMP Fluorescent Mix with UDG (2X)	250µl
D8014S-2	Bst DNA Polymerase	25µl
D8014S-3	Positive Control	50µl
D8014S-4	Nuclease-free Water	250µl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D8014M-1	LAMP Fluorescent Mix with UDG (2X)	1ml
D8014M-2	Bst DNA Polymerase	100µl
D8014M-3	Positive Control	200µl
D8014M-4	Nuclease-free Water	1ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D8014L-1	LAMP Fluorescent Mix with UDG (2X)	5ml
D8014L-2	Bst DNA Polymerase	500µl
D8014L-3	Positive Control	1ml
D8014L-4	Nuclease-free Water	5ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存, 一年有效。其中LAMP Fluorescent Mix with UDG (2X)需避光保存, 并尽量避免反复冻融。

注意事项:

- 使用前需确保试剂完全融化, 上下颠倒轻轻混匀后使用。混匀过程中尽量避免产生气泡。
- 经测试, 本产品反复冻融10次对使用效果无显著影响, 但仍需尽量避免反复冻融。反复冻融可能使产品性能下降。
- 等温扩增是超高灵敏度的检测, 请尽量在标准的PCR实验室中进行检测。等温扩增反应设置区域须尽量避免各种可能的扩增产物的污染。尽管本试剂盒采用UDG酶防污染技术, 但请勿勿打开PCR管盖, 等温扩增产物宜密封后按扩增后产物要求处理, 以避免超高浓度的扩增产物由于气溶胶等因素污染实验环境。
- 本等温扩增体系需要高浓度的二价离子, 样品中不能含有高浓度的EDTA等金属离子螯合剂。
- 建议使用带滤芯的吸头配制等温扩增体系, 可以最大限度的避免污染导致的假阳性。推荐BeyoGold™ 无菌滤芯盒装吸头 (FTIP631/FTIP635/FTIP638)。
- 移液器使用前建议使用DNA清除试剂处理, 以避免可能的假阳性。推荐使用RNase, DNase, RNA and DNA Away (R0127)。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 需要用户自备的耗材、仪器和试剂:

- a. 荧光定量PCR仪。
- b. DNase-free、RNase-free的吸头、离心管、荧光定量PCR用96孔板或384孔板、PCR板封板膜。

2. 样本和引物准备:

- a. 准备含DNA或RNA的样品。如果是含DNA的样品, 例如血清、细胞培养液、微量的细胞、病毒、细菌或真菌, 很多情况下可以直接检测; 也可以是其它纯化后的DNA样品。如果是含RNA的样品, 可以酌情尝试直接检测或将样品按照RNA提取试剂盒中相应的要求和步骤进行RNA提取, 提取的RNA可直接用于检测。推荐使用RNAeasy™ 动物RNA抽提试剂盒(离心柱式) (R0024)、RNAeasy™ 病毒RNA抽提试剂盒(离心柱式) (R0035)、RNAeasy™ 血液RNA抽提试剂盒(离心柱式) (R0091)。若提取后不立即检测, 也可保存于-70°C备用, 同时应尽量避免反复冻融。

注1: 样品加入量一般为反应体系1/10的量或更少。

注2: 如果样品不能及时检测, 可以置于-20°C或者-80°C保存, 可放置1-2个月。

注3: 含DNA/RNA的生物样品如果直接检测效果欠佳, 可以尝试纯化DNA/RNA样品后再进行检测。

- b. 准备特异的LAMP Primer Mix (10X): 16µM FIP/BIP, 2µM F3/B3, 4µM Loop F/B each (可选)。可以根据目的片段, 自行设计或使用专门的LAMP引物设计软件PrimerExplorer (<http://primerexplorer.jp/e/>)、NEB® LAMP (<https://lamp.neb.com/#/>)等设计引物。

3. LAMP反应体系的设置:

- a. 融解并混匀反应所需的各种溶液, 置于冰浴上或冰盒内。

- b. 参考下表在室温或冰浴上设置LAMP反应体系(以每孔反应体系为20 μ l为例)。下表中的Template为样品、阴性对照(Negative Control)或阳性对照(Positive Control)。Negative Control可使用溶解DNA样品的溶液或Nuclease-free Water, Positive Control可使用阳性质粒等。建议每次检测都设置Negative Control和Positive Control。

注: 通常推荐把样品前处理的房间、LAMP反应体系配制的房间、处理扩增产物的房间按顺序分成3个房间, 以避免出现假阳性。高浓度阳性对照处理时须特别小心, 仅稀释好的阳性对照可以进入LAMP反应体系配制的房间。

Reagent	Volume for Sample	Volume for Positive Control
LAMP Fluorescent Mix with UDG (2X)	10 μ l	10 μ l
LAMP Primer Mix (10X)	2 μ l	-
Nuclease-free Water	5 μ l	7 μ l
Template	2 μ l	2 μ l
Bst DNA Polymerase	1 μ l	1 μ l
Total Volume	20μl	20μl

- c. 用移液器轻轻吹打混匀或轻微Vortex混匀, 室温离心数秒, 使液体积聚于管底。

4. 反应条件:

- a. 37 $^{\circ}$ C反应5-10分钟, 通常就可以有效去除反应体系内可能的本试剂盒等温扩增产物造成的环境污染。**说明:** 初次进行检测时无需进行本步骤; 确定从未打开等温扩增反应体系管盖的情况下, 也无需进行本步骤; 仅当本试剂盒的扩增产物可能污染检测环境的时候, 需要执行本步骤。也可直接在qPCR仪中设置程序完成UDG酶处理。
- b. 使用qPCR仪进行反应, 建议采用如下的qPCR程序, 本程序是以ABI QuantStudio™ 6 Flex荧光定量PCR仪为例:
- (a) 37 $^{\circ}$ C, 5分钟(本步骤为UDG酶处理, 可选)
- (b) 65 $^{\circ}$ C, 15秒
- (c) 65 $^{\circ}$ C, 45秒(采集SYBR Green通道的荧光信号)
- (d) 重复步骤(b)和步骤(c), 总共60个循环。

注1: 引物不同, 对应的最适等温扩增温度也略有差异, 须进行一定的优化, 通常在60-65 $^{\circ}$ C之间。

注2: 模板浓度不同, 对应的最适循环数也略有差异, 须进行一定的优化, 通常在30-60个循环之间。

5. 结果判断:

- a. 阳性对照: 有明显的荧光曲线。
- b. 阴性对照: 无明显的荧光曲线。
- c. 样品阳性: 如果待测样本检测结果有明显的荧光曲线, 且阳性对照检测结果为阳性, 阴性对照品检测结果为阴性, 此次结果判断为阳性。
- d. 样品阴性: 如果待测样本检测结果无明显的荧光曲线, 且阳性对照检测结果为阳性, 阴性对照品检测结果为阴性, 此次结果判断为阴性。

注: 反应后, 切勿开盖。等温扩增的产物非常多, 气溶胶等因素很容易污染实验环境。判断结果后, 用密封后按实验室废弃物处置要求进行处理。如果确需开盖进行后续的分析检测, 建议在相对隔离的其它实验室内操作。

参考文献:

- Zhao Y, Chen F, Li Q, Wang L, Fan C. Chem Rev. 2015. 115(22):12491-545.
- Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, et al. Nucleic Acids Res. 2000. 28(12):E63.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
C0305S	BeyoColor™支原体等温扩增变色检测试剂盒	25次
C0305M	BeyoColor™支原体等温扩增变色检测试剂盒	100次
D7046S	Bst 6.0 DNA Polymerase	8kU
D7046M	Bst 6.0 DNA Polymerase	40kU
D7048S	Bst 8.0 DNA Polymerase	8kU
D7048M	Bst 8.0 DNA Polymerase	40kU
D7050S	Bst DNA Polymerase, Large Fragment	800U
D7050M	Bst DNA Polymerase, Large Fragment	4000U
D7053S	phi29 DNA Polymerase	250U
D7053M	phi29 DNA Polymerase	1kU
D7053L	phi29 DNA Polymerase	5kU
D7053XL	phi29 DNA Polymerase	20kU
D7055S	Bsu DNA Polymerase, Large Fragment	200U
D7055M	Bsu DNA Polymerase, Large Fragment	1000U
D7359-250 μ l	dUTP (100mM)	250 μ l

D7359-1ml	dUTP (100mM)	1ml
D7360S	Uracil-DNA Glycosylase (<i>E.coli</i>)	1000U
D7360M	Uracil-DNA Glycosylase (<i>E.coli</i>)	5000U
D7362S	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Bacterium)	100U
D7362M	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Bacterium)	500U
D7364S	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod)	200U
D7364M	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod)	1000U
D7364L	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod)	5000U
D7371	dNTP Mixture (2.5mM each)	1ml
D7373	dNTP Mixture (25mM each)	250µl
D7376-1ml	dNTP/dUTP Mixture (2.5mM each/5mM)	1ml
D7376-5ml	dNTP/dUTP Mixture (2.5mM each/5mM)	5ml
D7405-0.1ml	SYBR Green I (10,000X in DMSO, qPCR Grade)	0.1ml
D7405-0.5ml	SYBR Green I (10,000X in DMSO, qPCR Grade)	0.5ml
D7405-2ml	SYBR Green I (10,000X in DMSO, qPCR Grade)	2ml
D7586S	猫细小病毒(FPV)等温扩增变色检测试剂盒	25次
D7586M	猫细小病毒(FPV)等温扩增变色检测试剂盒	100次
D7589S	猫细小病毒(FPV)等温扩增荧光检测试剂盒	25次
D7589M	猫细小病毒(FPV)等温扩增荧光检测试剂盒	100次
D8011S	BeyoColor™等温扩增变色检测试剂盒	25次
D8011M	BeyoColor™等温扩增变色检测试剂盒	100次
D8012S	BeyoColor™等温扩增变色检测试剂盒(LAMP/RT-LAMP法, 含UDG)	25次
D8012M	BeyoColor™等温扩增变色检测试剂盒(LAMP/RT-LAMP法, 含UDG)	100次
D8012L	BeyoColor™等温扩增变色检测试剂盒(LAMP/RT-LAMP法, 含UDG)	500次
D8014S	等温扩增荧光检测试剂盒(LAMP/RT-LAMP法, 含UDG)	25次
D8014M	等温扩增荧光检测试剂盒(LAMP/RT-LAMP法, 含UDG)	100次
D8014L	等温扩增荧光检测试剂盒(LAMP/RT-LAMP法, 含UDG)	500次
D8056S	肺炎支原体(MP)等温扩增变色检测试剂盒	25次
D8056M	肺炎支原体(MP)等温扩增变色检测试剂盒	100次
D8059S	肺炎支原体(MP)等温扩增荧光检测试剂盒	25次
D8059M	肺炎支原体(MP)等温扩增荧光检测试剂盒	100次
R0024	RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)	12次
R0026	RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次
R0027	RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)	200次
R0035S	RNAeasy™病毒RNA抽提试剂盒(离心柱式)	12次
R0035M	RNAeasy™病毒RNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次
R0035L	RNAeasy™病毒RNA抽提试剂盒(离心柱式)	200次
R0091S	RNAeasy™血液RNA抽提试剂盒(离心柱式)	12次
R0091M	RNAeasy™血液RNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次
R0091L	RNAeasy™血液RNA抽提试剂盒(离心柱式)	200次
FSF030-100pcs	BeyoGold™封板膜(透明, 自粘型, PP)	100片/包装
FSF033-100pcs	BeyoGold™微透气封板膜(自粘型, 人造丝, 无菌)	100片/包装
FSF035-20pcs	BeyoGold™荧光定量PCR用封板膜(压敏型)	20片/包装
FSF035-100pcs	BeyoGold™荧光定量PCR用封板膜(压敏型)	100片/包装
FSF039-20pcs	BeyoGold™荧光定量PCR用封板膜(压敏型, 进口分装)	20片/包装
FSF039-100pcs	BeyoGold™荧光定量PCR用封板膜(压敏型, 进口分装)	100片/包装
FSF051-100pcs	BeyoGold™自粘铝箔封板膜	100片/包装
FSF062-100pcs	BeyoGold™热封铝箔封板膜	100片/包装
FTUB110	96管PCR板	10个/包
FTUB111	96管PCR板(带边框)	10个/包
FTUB333	荧光定量PCR用96孔板(ABI原装)	20个/包装
FTUB335-10pcs	BeyoGold™荧光定量PCR用96孔板(0.2ml, 无裙边, 透明)	10个/盒

FTUB335-50pcs	BeyoGold™荧光定量PCR用96孔板(0.2ml, 无裙边, 透明)	10个/盒, 5盒/箱
FTUB337-10pcs	BeyoGold™荧光定量PCR用96孔板(0.2ml, 半裙边, 透明)	10个/盒
FTUB337-50pcs	BeyoGold™荧光定量PCR用96孔板(0.2ml, 半裙边, 透明)	10个/盒, 5盒/箱
FTUB339-10pcs	BeyoGold™荧光定量PCR用96孔板(0.2ml, 高裙边, 磨砂)	10个/盒
FTUB339-50pcs	BeyoGold™荧光定量PCR用96孔板(0.2ml, 高裙边, 磨砂)	10个/盒, 5盒/箱

Version 2024.05.08