



RT-LAMP恒温扩增试剂盒 (RNaseH2探针法)

RT-LAMP isothermal amplification kit
(RnaseH2 probe-based)

✉ info@ezassay.com

🌐 www.ezassay.com

深圳易致生物科技有限公司

目录编码: RT-LAM-PB-1
RT-LAM-PB-10

目录 CONTENTS

内容	页码
产品简介	1
试剂盒组成	1
需要但未提供的试剂	1
储存	1
探针设计示例	2
SNP探针设计示例	3
配置反应体系	3
典型结果示例	4
注意事项	4
常见问题及解决方案	4
如何选择合适的LAMP试剂盒	5

产品简介

Brief introduction

本试剂盒首先利用耐高温逆转录酶完成RNA逆转录，然后通过Bst2.0 DNA聚合酶快速完成DNA的扩增，同时结合耐高温内切酶对应的探针，可用于探针法检测，具有出色的稳定性，相较于传统的染料法、探针法，灵敏度更高、特异性更强，特别适合SNP检测。

试剂盒组成

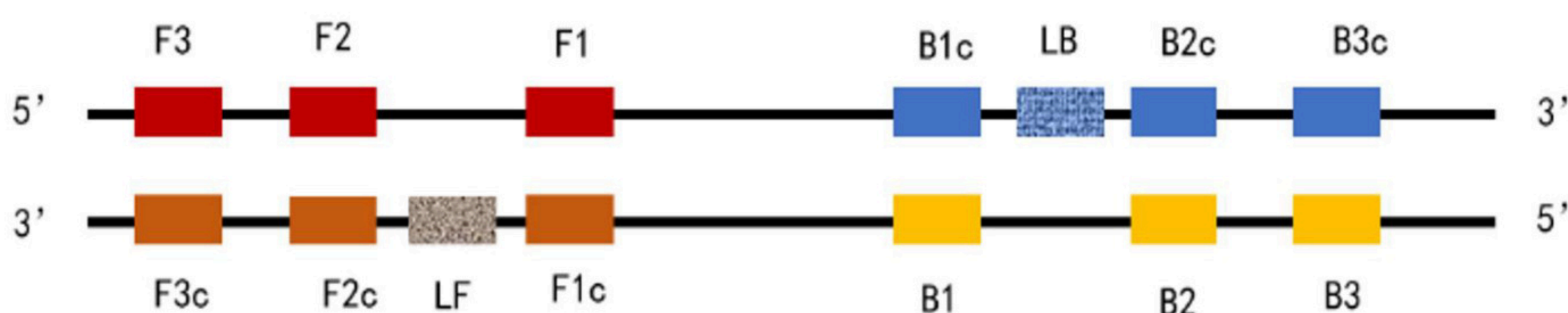
Materials supplied

序号	产品	RT-LAM-PB-1	RT-LAM-PB-10
01	RT-LAMP Reaction Buffer(2X)	0.7ml*2	0.7 mL*20
02	RT-LAMP Enzyme Mix (探针法)	200μL	200μL*10
03	Positive Control	80μl	80μL*10

需要但未提供的试剂

Other materials required

1. 荧光仪，例如Q-PCR仪。
2. LAMP primer引物。（推荐在线设计软件 <https://lamp.neb.com/#/>）
3. 特异性探针。



- F1c: F1 complementary
- FIP: Forward Inner Primer
- LF: Forward loop primer
- B1c: B1 complementary
- BIP: Backward Inner Primer
- BF: Backward loop primer

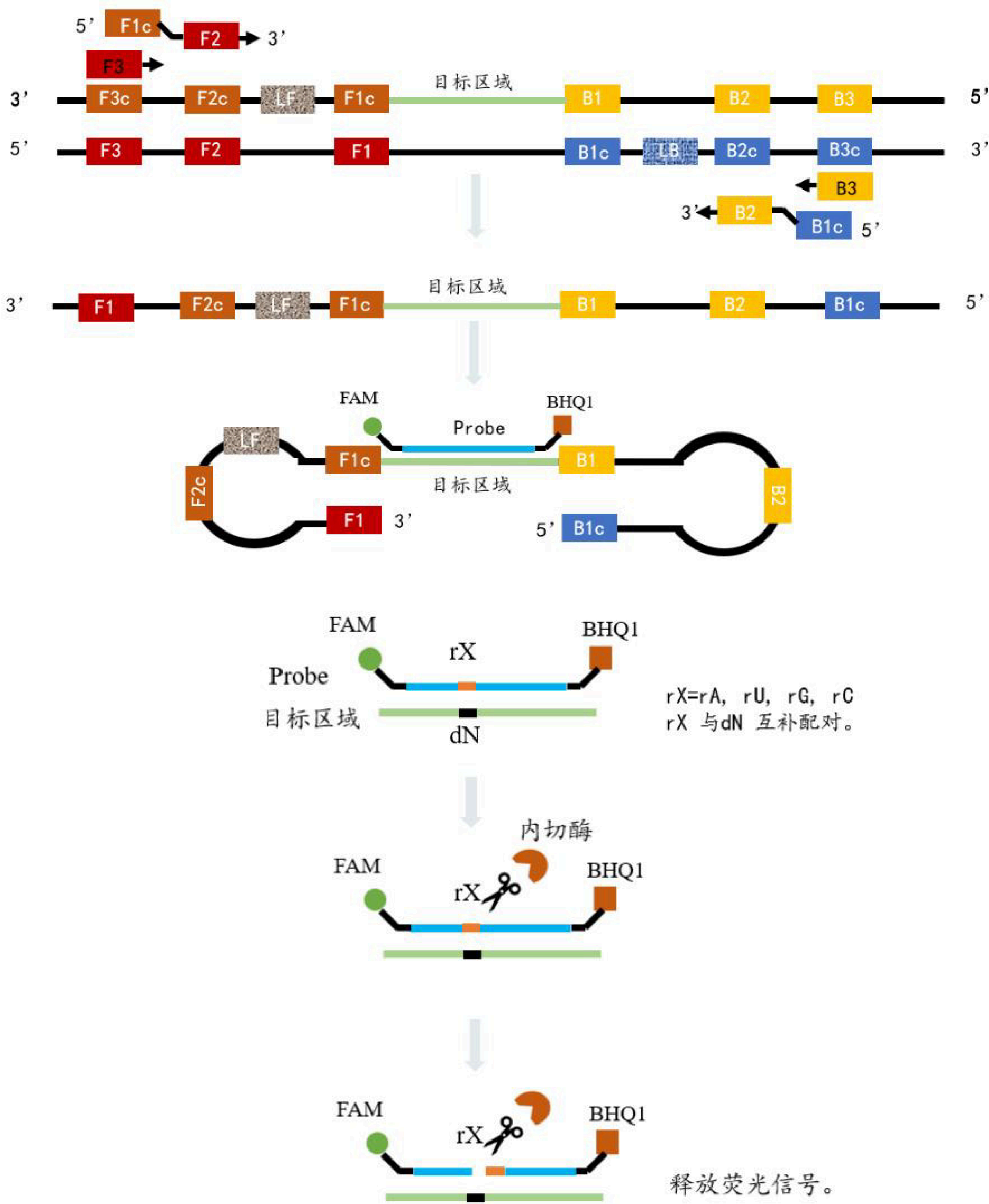
储存

Storage

-20°C保存。▲避免反复冻融。

探针设计示例

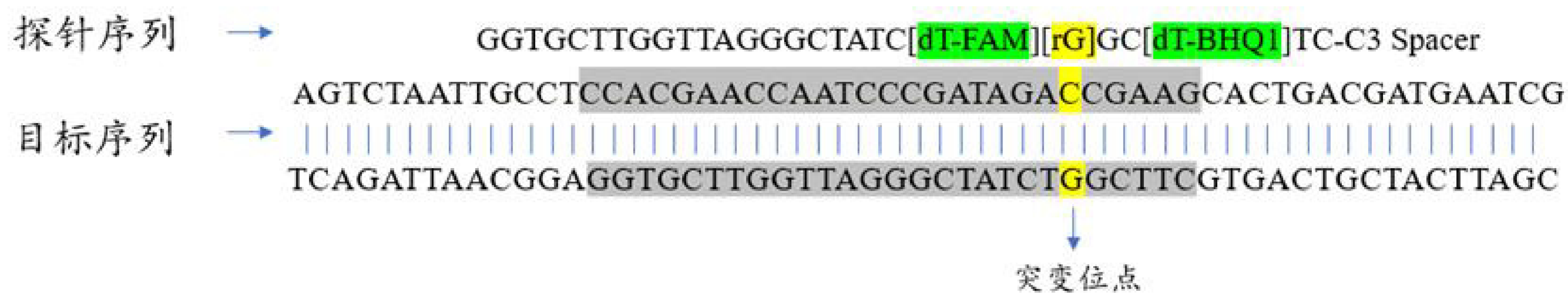
Example of a probe design



dN代表DNA碱基A、T、C、G; rX代表RNA碱基rA、rU、rC、rG

SNP探针设计示例

Example of a probe design



配制反应体系

Preparation of reagents

1. 根据下表配置反应体系：

组分	用量	终浓度
RT-LAMP Reaction Buffer (2X)	12.5 μ l	1X
RT-LAMP Enzyme Mix	2 μ L	-
10X Primers	2.5 μ l	1.6 μ M FIP/BIP, 0.4 μ M LF/LB, 0.2 μ M F3/B3,
Probe (5 μ M)	1 μ l	200nM
模板RNA*	1 μ l	>10 copies or more
ddH2O	Up to 25 μ l	---

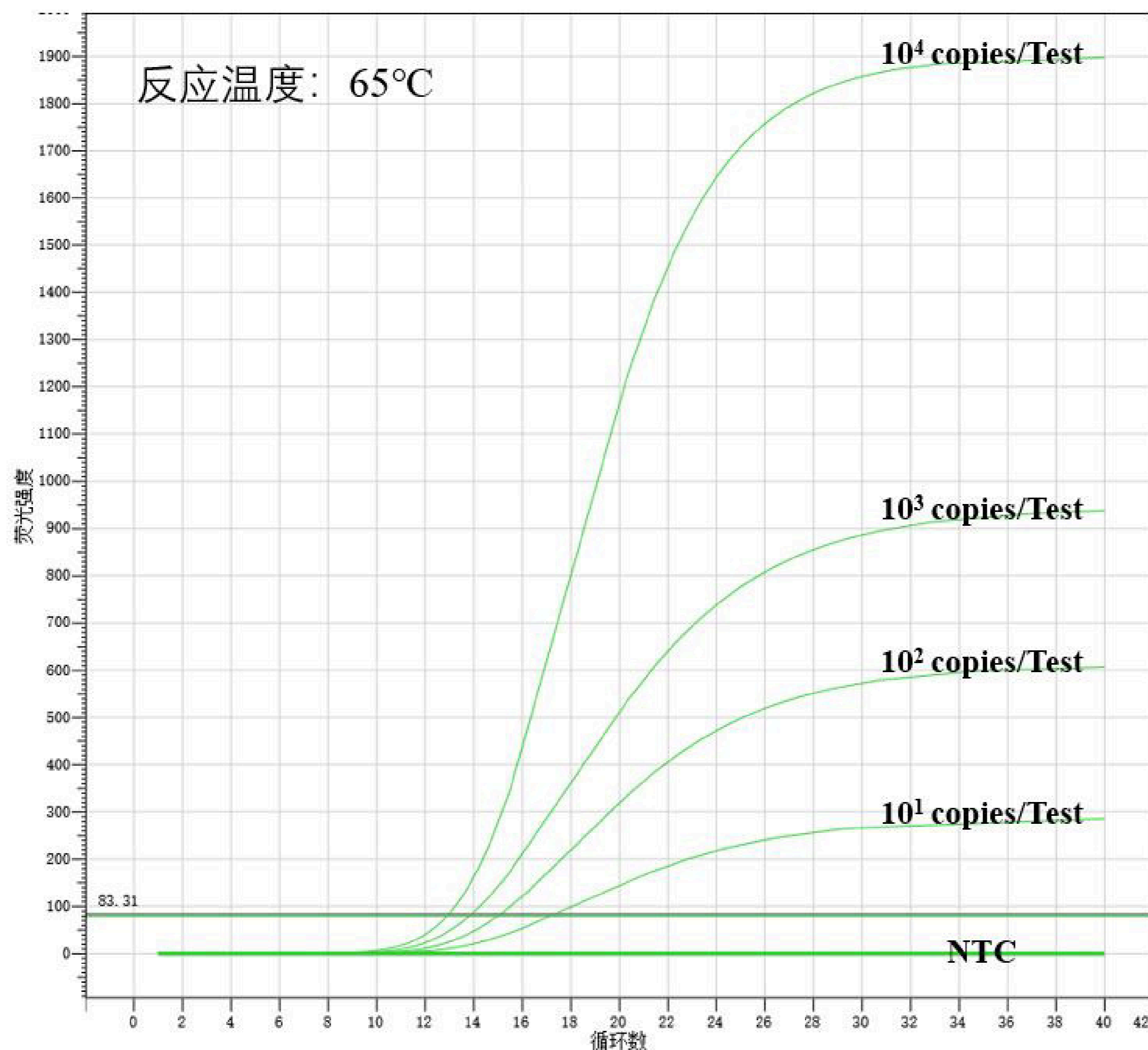
*加样示例（以配制10X Primers混合液为例）：1. 引物储备液浓度：将FIP与BIP引物稀释至80 μ M；将LF、LB、F3与B3引物稀释至20 μ M。2. 加样体积：FIP、BIP、LF、LB引物：各0.5 μ L；F3、B3引物：各0.25 μ L。（引物亦可稀释为其他浓度，此时添加体积需根据反应体系中的终浓度要求进行相应计算。）

**阳性对照组加入8 μ L Positive Control（已包含Primers，Probe和模板RNA）

2. 放置荧光仪中，65 $^{\circ}$ C反应40分钟。选择探针对应的荧光通道，每分钟收集荧光。阳性对照组选择FAM荧光通道收集荧光。

典型结果示例

Preparation of reagents



注意事项

Notes

- 试剂及模板的配制操作在不同区域进行，以免发生污染
- 建议每次实验增加无模板阴性对照。
- 为了保证重复良好的结果，建议模板DNA最后加入。
- PCR仪确保关闭热盖，务必提前关闭热盖后运行控制热盖温度。某些品牌PCR仪开机后热盖会默认升温到105°C。建议运行几个循环，将热盖温度降至70°C以下。

常见问题及解决方案

Common problems and solutions

1、扩增曲线异常

- 扩增曲线不光滑：信号较弱，经系统校正后产生。提高模板浓度重复性实验；ROX 类型使用错误，确认所用 ROX 与机型是否匹配。
- 扩增曲线断裂或者下滑：模板浓度较高，基线的终点值大于 CT。减小基线终点 (CT值-4)，重新分析数据。个别扩增曲线突然骤降：反应管内留有气泡。处理样本时要注意离心，进行扩增反应之前要仔细检查反应管内是否有气泡残留。
- 扩增曲线成斜线型上升：Probe使用浓度过高，调节最佳反应浓度。

2、反应结束无扩增曲线出现

- 反应时间不够：一般设置30分钟左右，若没有扩增曲线出现，可以适当增加反应时间，但不要超过60分钟，扩增时间过长会增过背景信号，降低数据可信度。
- 模板浓度太低：减少稀释度重复实验，一般未知浓度的样品先从最高浓度做起。
- 模板降解：重新制备模板，重复实验。

3、阴性对照出现明显扩增

- 反应体系污染：更换新的mix、水、引物重复实验。反应体系应尽量分区配制，减少气溶胶污染。
- 探针自身或与引物形成二聚体。

如何选择合适的LAMP试剂盒

How to choose the LAMP products

产品名称	分类	待测模板	货号	简介
LAMP恒温扩增试剂盒	基础型 (仅扩增)	DNA	LAM-LQ-1	类似基础PCR，需跑胶或添加荧光染料(如Eve green)观察结果。
		RNA	RT-LAM-LQ-1	
	目视法 (酸碱指示剂)	DNA	LAM-LQ-RED-1	加入了颜色染料。根据颜色变化，可以肉眼判断阴阳。
		RNA	RT-LAM-LQ-RED-1	
	荧光染料 (Eva Green)	DNA	LAM-LQ-EGR-1	包含Eve Green 荧光染料，可以用Q-PCR仪快速分析结果。
		RNA	RT-LAM-LQ-EGR-1	
	LAMP+CRISPR (Cas12b crRNA)	DNA	LAM-CAS-01	引入CRISPR/Cas12b技术，实现一管法检测，具有极高的灵敏度、特异性。信号特别强。适合荧光观察结果。（也适用试纸条）
		RNA	RT-LAM-CAS-01	
	荧光探针 (RNaseH2探针)	DNA	LAM-PB-1	引入RNaseH2 探针，灵敏度高，特异性强，尤其适合SNP检测。可以荧光仪或试纸条观察结果。
		RNA	RT-LAM-PB-1	
LAMP重要酶原料	Bst2.0 聚合酶		BST2-1600	超强DNA 扩增，适合DNA模板的扩增反应。
	Bst2.0 聚合酶（热启动）		BST-L2-1600	引入适配体(aptamer), 大幅提高特异性。
	耐高温RT逆转录酶（for LAMP）		RT-TS-LM-2000	超强逆转录功能，耐高温，完美搭配LAMP。
	RNaseH2/RNaseH II 内切酶（耐高温）		RH2-250	耐高温70~75° C。
	UDG/UNG 酶（热敏型）		UG-HL-100	作用于含有dU的单链或双链DNA，对RNA无活性。本产品对高温敏感，50°C以上就可以使酶不可逆失活，适用于LAMP，RT-LAMP。

核酸与蛋白产品专业提供商

Professional supplier of point-of-care test products

EZ assay 深圳易致生物科技有限公司

www.ezassay.com

info@ezassay.com