EZassay

RT-LAMP恒温扩增试剂盒

RT-LAMP isothermal amplification kit

info@ezassay.com
www.ezassay.com
深圳易致生物科技有限公司

目录编码: RT-LAM-LQ-1
RT-LAM-LQ-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
配置反应体系	2
注意事项	2
如何选择合适的LAMP试剂盒	3

产品简介
Brief introduction

RT-LAMP恒温扩增试剂盒基于热稳定型逆转录酶与高活性的 Bst 2.0 DNA 聚合酶，在恒温条件下实现目标RNA的快速逆转录与扩增。逆转录与扩增反应可在同一体系中连续完成，操作简便、反应高效。

本试剂盒采用适配体（Aptamer）介导的热启动技术：在低温条件下，适配体与 Bst DNA 聚合酶特异性结合，抑制其酶活性；当反应升温至工作温度后，适配体构象发生变化并从酶上解离，从而恢复酶活性并启动扩增反应。该机制可有效减少体系配制阶段的非特异性扩增，显著提高检测的特异性与重复性。

试剂盒内置阳性对照，可用于反应体系建立及实验过程的质量控制，帮助用户快速完成检测方法搭建与性能验证。具有高灵敏度、强特异性及良好的体系稳定性，适用于分子检测及POCT应用开发。

试剂盒组成
Materials supplied

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

需要但未提供的试剂
Other materials required

1. Primer引物（Primer在线设计软件 https://lamp.neb.com/#!/）
2. Probe探针或荧光染料（根据实验需要）



- F1c: Complementary sequence of F1
- FIP: Forward Inner Primer (F1c + F2)
- LF: Forward loop primer
- B1c: Complementary sequence of B1
- BIP: Backward Inner Primer (B1c + B2)
- LB: Backward loop primer

储存
Storage

本试剂盒应于 −20°C 保存。为避免反复冻融对酶活性的影响，建议按使用量进行分装保存。

配制反应体系
Preparation of reagents

1、 按下表配制反应混合液。

组分	用量	终浓度
RT-LAMP Reaction Buffer (2X)	12.5μl	1X
RT-LAMP Enzyme Mix	2μl	-
Primers (10X)*	2.5μl	1.6 μM FIP/BIP, 0.4 μM LF/LB, 0.2 μM F3/B3,
模板 RNA**	1μl	>10 copies or more
ddH2O	Up to25μl	-

*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 μM；将LF、LB、F3与B3引物稀释至20 μM。2. 加样体积：FIP、BIP、LF、LB 引物：各0.5 μL；F3、B3 引物：各 0.25 μL。（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8μl Positive Control（已包含Primers和模板RNA）

2、 65°C恒温孵育1 h，85°C加热10min后，可以在2%的琼脂糖凝胶上进行电泳分析；如果实验需要，可自行在反应体系中添加荧光染料，在荧光定量 PCR 仪每分钟读取一次荧光信号。
3、 RT-LAMP恒温扩增的特点是反应迅速，荧光信号值高。但容易产生非特异信号。建议结合CRISPR技术 AapCas12b蛋白（货号：CAS-12P-010）或BrCas12b 蛋白（货号：CAS-12R-010）使用。

注意事项
Notes

- 建议每次实验增加无模板阴性对照。
- 试剂及模板RNA的配制操作在不同区域进行，以免发生污染。
- 为了保证重复良好的结果，建议最后加入模板RNA。
- 温控设备可以用金属浴，水浴锅或PCR仪。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。
- Primer在线设计软件 http://primerexplorer.jp/e/

如何选择合适的LAMP试剂盒

How to choose the LAMP products

产品名称	货号		简介
	DNA	RNA	
LAMP恒温扩增试剂盒	LAM-LQ-1	RT-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。
LAMP恒温扩增试剂盒（目视法）	LAM-LQ-RED-1	RT-LAM-LQ-RED-1	加入了颜色染料。（酸碱指示剂）根据颜色变化，可以裸眼判断阴阳。
LAMP恒温扩增试剂盒（含荧光染料)	LAM-LQ-EGR-1	RT-LAM-LQ-EGR-1	包含Eve Green 荧光染料，可以用Q-PCR仪快速分析结果。
LAMP-CRISPR 荧光检测试剂盒（一步法）	LAM-CAS-01	RT-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）
基于LAMP探针法的SNP专用检测试剂盒	LAM-SNP-1	RT-LAM-SNP-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。

如何选择合适的LAMP相关酶原料

How to choose the LAMP-related enzymes

产品名称	货号	简介
Bst2.0 聚合酶（热启动）	BST2-1600	性能均衡，兼顾灵敏度与特异性，适用于 LAMP 目视法、荧光染料法、探针法及 CRISPR 等多种应用场景，推荐作为通用型 Bst 聚合酶。
Bs3.0 聚合酶	BST3-1600	扩增速度更快、灵敏度更高，适用于对检测速度和灵敏度要求较高的 LAMP 探针法、RNase H2 及 CRISPR 等高特异性检测体系。
耐高温RT逆转录酶（for LAMP)	RT-TS-LM-2000	耐高温，超强逆转录酶，以RNA为模板合成cDNA，完美搭配LAMP。
RNaseH2/RNaseH II 内切酶（耐高温）	RH2-250	耐高温70~75°C。可以增强LAMP特异性。
AapCas12b 蛋白 (from Alicyclobacillus acidiphilus)	CAS-12P-010	耐高温60~65°C。可以增强LAMP特异性。
BrCas12b 蛋白 (from Brevibacillus leverages)	CAS-12R-010	耐高温65~70°C。可以增强LAMP特异性。
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

EZassay 深圳易致生物科技有限公司

www.ezassay.com
info@ezassay.com