

天
净
沙
系
列

CAT#:16-99183
低温运输, -20℃保存

TIANDZ

木蝴蝶 LAMP 试剂盒

Semen oroxyli 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 12 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 D405

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

产品及特点	木蝴蝶（<i>Semen oroxyli</i>），是唇形目、紫葳科、木蝴蝶属直立小乔木，高6-10米，树皮灰褐色。花期7月至10月，果期10月至翌年2月。喜温暖湿润气候，耐干旱，不耐寒，耐贫瘠，喜生于温暖向阳的山坡、河岸，对土壤要求不严，以肥沃的砂质壤土生长良好，在贫瘠土壤亦能生长，但较缓慢。原产亚洲的中国、越南、老挝、泰国、柬埔寨等地，生于海拔500-900米热带及亚热带低丘河谷密林。喜温暖湿润，耐干旱贫瘠，不耐寒。种子和树皮可供药用，也是一种观果和观花园林绿化植物。本公司开发了简单快捷的木蝴蝶 LAMP 检测试剂盒，它具有下列特点： 1. 即开即用，用户只需要提供样品 DNA。 2. 用 LAMP 恒温扩增法扩增木蝴蝶特异片段，不需要荧光 PCR 等贵重仪器。同时扩增时间只需要 1h，适合现场或实验条件简陋的单位使用。 3. 检测灵敏性比 PCR 高 10 倍以上。 4. 特异性高，由于使用四条针对木蝴蝶保守基因的特异引物，比使用2 条引物的 PCR 专一性更高。 5. 提供无传染性的阳性对照，便于分析实验结果。 6. 最低灵敏度在 100 拷贝/反应左右。 7. 本试剂盒足够做 50 次 20μL 体系的 LAMP 扩增。本产品只能用于科研。		
规格及成分	成 份	编号	十孔盒包装
	2×可视化 UNG-LAMP MagicMix	180703a	500μL（绿盖）
	木蝴蝶LAMP 引物混合液	16-99183yw	200μL（白盖）
	木蝴蝶 LAMP 阳性对照 (1×10E8 拷贝/μL)	60908-99183pc	50μL（黄盖）
	使用手册	16-99183sc	1 份
运输及保存	低温运输，-20℃保存，保存期限为一年。木蝴蝶 LAMP 阳性对照最好单独放置，不要污染其他试剂。		
自备试剂	待测样品。		
使用方法	一、样品 DNA 的制备 1. 用自选方法纯化样品 DNA，本试剂盒跟市场上大多数 DNA 提取试剂盒兼容。也可以选购本公司的中草药DNAout，其使用手册可以从本公司网站 www.tiandz.com，通过搜索产品名称中草药DNAout或产品编号 60805-20下载。		

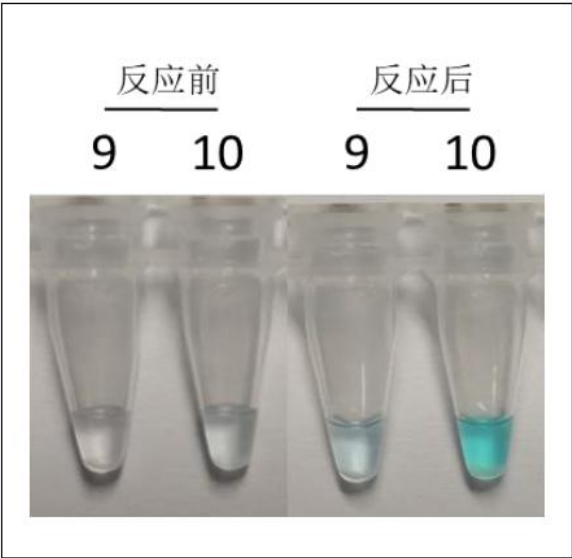
2. 如果有 N 个样品，则需要做 N+2 个样品制备，包括一个样品制备阳性对照 (PC) 和一个样品制备阴性对照 (NC)。样品使用量根据所选择的试剂盒决定。木蝴蝶 LAMP 阳性对照的 10000 倍稀释液作为 LAMP 阳性对照，样品制备阴性对照是直接用水作为阴性对照，然后和 N 个样品一起进行 DNA 提取操作，得到 N+2 个 DNA 样品。

二、LAMP (20 μ L 体系)

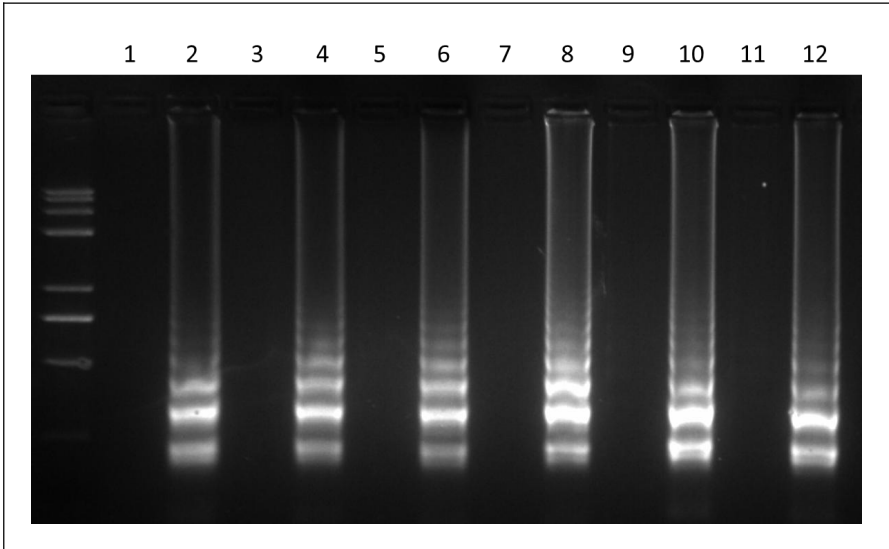
3. 反应设置：如果有 N+2 个 DNA 纯化样品，则最好设置 N+4 个 LAMP 扩增，增加 LAMP 阴性对照和阴性对照各 1 个。在 N+4 个 PCR 管中加入下列成分：

成分	N+2 个 样品管	LAMP 阴性对照管	LAMP 阳性对照管
2 $\times$ 可视化 UNG-LAMP MagicMix	各 10 μ L	10 μ L	10 μ L
木蝴蝶 LAMP 引物混合液	各 4 μ L	4 μ L	4 μ L
N+2 个样品 DNA	各 6 μ L	-	-
LAMP 阴性对照 (水)		6 μ L	
LAMP 阳性对照 (木蝴蝶 LAMP 阳性对照的 10000 倍稀释液)	-	-	6 μ L

4. 混匀，此时反应液呈现非常浅的蓝色，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。
5. 置于 25 $^{\circ}$ C 5min (让 UNG 灭活可能的 LAMP 的污染)，然后放 61 $^{\circ}$ C 扩增 60min。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 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。
6. 80 $^{\circ}$ C 10min 灭活 Bst DNA 聚合酶和 UNG 酶。
7. 将反应管放置在白色背景前观察，观察反应液颜色并用手机照相留底。
8. 实验结果分析。阳性对照将呈现蓝色，无模板的阴性对照将呈现无色或非常浅的蓝色，样品管的颜色如果接近阳性对照则说明有扩增，如果接近阴性对照则说明无扩增。标准的反应结果如下图 (9 号为阴性，10 号为阳性，此处的 9 号和 10 号跟下步的电泳照片中的 9 号和 10 号是相同的两个样品)：



9. 如果需要也可以电泳确认实验结果：取 10 μ L LAMP 扩增产物直接进行 2%琼脂糖凝胶电泳（本产品不需要单独加 loading buffer），最好使用 100 bpDNA Marker。如果样品为阳性，将会得到梯形扩增产物。典型的电泳结果见下图（奇数样为阴性结果，偶数样为阳性结果。此处的 9 号和 10 号跟上步照片中的 9 号和 10 号是相同的两个样品）。



10. 注意消除环境污染，LAMP 产物易产生气溶胶，飘在空气中影响下一次实验，建议反应结束后，用紫外灭菌。先加好除阳性对照和样品以外的其它溶液，到另一个房间添加阳性对照及样品，可有效防止引物、MagicMix 被污染。

关联产品

木蝴蝶探针法荧光定量 PCR 试剂盒