



Общество с ограниченной ответственностью
«Биолабмикс»
ИНН 5408278957 КПП 540801001
630090, Новосибирская обл., г. Новосибирск,
ул. Инженерная, дом № 28
Tel/Fax: +7(383)363-51-91, Tel: +7(383)363-22-40
E-mail: sales@biolabmix.ru

БиоМастер LAMP (2×)

Кат. номер МН051-400, МН051-2040

Описание

Набор БиоМастер LAMP (2×) содержит 2× реакционную смесь БиоМастер LAMP (2×), стерильную воду и буфер для нанесения (6×). 2× реакционная смесь БиоМастер LAMP (2×) предназначена для проведения петлевой изотермической амплификации (LAMP) с последующим контролем прохождения реакции в геле. В состав БиоМастер LAMP (2×) входят все необходимые компоненты реакции (исключая ДНК-матрицу и праймеры):

- высокопроцессивный рекомбинантный большой фрагмент (LF) *Bst* ДНК-полимеразы;
- смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов;
- буфер;
- Mg^{2+} (6 мМ).

Смесь оптимизирована для проведения эффективной и воспроизводимой LAMP с образцами геномной, плазмидной и вирусной ДНК. В состав смеси входят добавки, повышающие время полужизни и процессивность *Bst* LF ДНК-полимеразы за счет повышения её стабильности во время реакции.

Представленная форма набора для проведения ПЦР экономит время и снижает вероятность контаминации за счет малого числа шагов пипетирования. 6×буфер для нанесения на гель облегчает пробоподготовку для анализа в геле и контроль над ходом электрофореза.

Состав набора

Каталожный номер	БиоМастер LAMP (2×)	Вода	Буфер для нанесения (6×)	Кол-во реакций по 25 мкл
МН051-400	4 × 1,25 мл	4 × 1,25 мл	1 × 1 мл	400
МН051-2040	17 × 1,5 мл	1 × 1,8 мл	2 × 1,8 мл	2040

Состав БиоМастер LAMP (2×):

100 мМ Трис-НСl, рН 8,9, 20 мМ КCl, 2 мМ каждого нуклеозидтрифосфата, 12 мМ $MgCl_2$, 0,06 ед. акт./мкл *Bst* LF ДНК-полимеразы, 0,5% Tween 20, стабилизаторы *Bst* LF ДНК-полимеразы.

Область применения

петлевая изотермическая амплификация с детекцией по конечной точке

Свойства полимеразы

LF Bst ДНК-полимеразы представляет собой большой фрагмент Bst (*Bacillus stearothermophilus*) полимеразы (полипептид 67 кДа), выделенный из штамма *E.coli*, несущего модифицированный клонированный ген. Фермент обладает 5'→3' - полимеразной активностью, но не обладает 5'→3' и 3'→5'-экзонуклеазной активностью, что позволяет использовать его для проведения изотермальной амплификации, в том числе петлевой изотермальной амплификации (LAMP – Loop-Mediated Isothermal Amplification). LF Bst ДНК-полимеразы обладает высокой ДНК-цепь вытесняющей активностью и может применяться для изотермической амплификации ДНК. Наибольшую активность фермент проявляет в температурном диапазоне 60–65 °С.

Преимущества использования

- смесь окрашена для облегчения раскапывания;
- сокращается время на подготовку реакции;
- снижается вероятность контаминации при смешивании компонентов ПЦР;
- стандартизируются условия постановки однотипных реакций (снижается погрешность при смешивании компонентов ПЦР в разных экспериментах).

Протокол проведения амплификации

1. Разморозить реакционную смесь и тщательно перемешать. Рекомендуем использовать лёд или охлажденный термостатив для постановки реакции.
2. В тонкостенные пробирки для ПЦР добавить следующие компоненты из расчета объема одной реакционной смеси 25 мкл:

Компонент	Объем	Конечная концентрация
БиоМастер LAMP (2×)	12,5	1×
Смесь праймеров	переменный	1– 2 мкМ
ДНК-матрица	переменный	100 пг – 1 мкг
Стерильная вода	до 25 мкл	

3. Осторожно перемешать и сбросить капли, используя центрифугу.
4. Реакцию проводить при температуре 65 °С. Для мониторинга в режиме реального времени можно использовать соответствующий амплификатор с программой: 65 °С – 50 сек и снятием сигнала при каждом цикле, длительностью 30–40 циклов.
5. После проведения реакции проанализировать продукты амплификации электрофорезом. Пробы наносятся на гель без добавления буфера для нанесения.

Примечание: для разделения продуктов реакции электрофорезом мы рекомендуем использовать 1xTAE буфер с бромистым этидием.

Условия хранения

Хранить в месте, защищенном от попадания света:
при +25 °С – 7 дней; при +4 °С – 4 месяца; при -20 °С – 18 месяцев;
не более 50 циклов замораживания-размораживания.

Условия транспортировки

Транспортируется в термоконтейнерах с охлаждающими элементами, допускается повышение температуры до температуры окружающей среды при транспортировке до 10 дней.