



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 RT-LAMP-Color (2×)

Кат. номер RM09-80, RM09-400

Описание

Набор предназначен для проведения колориметрической обратной транскрипции (RT) и петлевой изотермической амплификации (LAMP) в одной пробирке. Набор БиоМастер RT-LAMP-Color (2×) содержит 2× буфер для RT-LAMP-Color; 25× БиоМастер RT-LAMP-микс, Воду и обработанную ДЭПК. В состав 2× буфер для RT-LAMP-Color входят все необходимые компоненты реакции (исключая ферменты, ДНК-матрицу и праймеры): буферный компонент с низкой емкостью; смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов; ионы Mg^{2+} (6 мМ), индикаторный краситель.

В состав 25× БиоМастер RT-LAMP-микс входит ревертаза RNAscribe RT и LF Bst ДНК-полимераза в оптимальном соотношении для протекания обеих реакций.

RNAscribe RT – генетически модифицированная обратная транскриптаза (ревертаза) вируса лейкемии мышей (M-MuLV). Фермент проявляет РНК- и ДНК-зависимую полимеразную активность и проявляет оптимальную активность при 55 °С (активна до 65 °С).

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). Наибольшую активность фермент проявляет в температурном диапазоне 60–65° С.

2× буфер для RT-LAMP-Color оптимизирован для эффективного протекания как RT, так и LAMP. Добавки и усилители, входящие в него, позволяют проводить эффективную RT-LAMP со сложных и GC-богатых матриц.

Основное достоинство данного продукта заключается в возможности простой визуальной детекции результатов реакции. В ходе амплификации реакционные смеси, в которых накапливается продукт, меняют свой цвет с красного на желтый за 15–60 мин, в зависимости от концентрации матрицы.

Состав набора

Каталожный номер	2× буфер для RT-LAMP-Color	25× БиоМастер RT-LAMP-микс	Вода, обработанная ДЭПК	Кол-во реакций по 25 мкл
RM09-80	2 × 0,5 мл	1 × 80 мкл	2 × 0,5 мл	80
RM09-400	4 × 1,25 мл	1 × 400 мкл	3 × 1,8 мл	400

Состав БиоМастер RT-LAMP-Color (2×):

Буфер с низкой емкостью, 20 мМ КСl, 2 мМ каждого нуклеозидтрифосфата, 12 мМ MgCl₂, 0,06 ед. акт./мкл Bst LF ДНК-полимеразы, 0,5% Tween 20, стабилизаторы, индикаторный краситель.

Состав БиоМастер RT-LAMP-микс:

50 мМ Трис-НСl, рН 8,0 (при 25 °С), 100 мМ NaCl, 1 мМ ЭДТА, 5 мМ дитиотреитол, 50 % (v/v) глицерин и 0,1 % (v/v) NP-40, ингибитор РНКаз, ревертаза RNAscribe RT и LF Bst ДНК-полимераза.

Применение

- Колориметрическая одношаговая обратная транскрипция (RT) и петлевая изотермическая амплификация (LAMP);
- Колориметрическая петлевая изотермическая амплификация с детекцией по конечной точке.

Преимущества использования

- Высокая чувствительность (100 пг – 1 мкг РНК);
- Смесь не требует дополнительных манипуляций или сложных приборов для визуализации результата реакции.

Протокол

1. Разморозить необходимые реактивы 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
2× буфера для RT-LAMP-Color	12,5	1×
25× БиоМастер RT-LAMP-микс	1	1×
Смесь праймеров	переменный	1– 2 мкМ
РНК-матрица	1-5* мкл	100 пг – 1 мкг
Вода, обработанная ДЭПК	до 25 мкл	

* – смесь изготовлена на буфере низкой емкости, чтобы избежать получения ложноположительного результата соблюдайте следующие правила: образец в 1× ТЕ- буфере можно наносить не более 1 мкл, в 0,1× ТЕ-буфере не более 5 мкл, для экспресс-анализа рекомендуем использовать «Набор Fast Lysis Buffer для экспресс-выделения ДНК» (FL-bio-100, FL-bio-200) до 5 мкл на реакцию!

3. Осторожно перемешать и сбросить капли, используя центрифугу.

4. Реакцию проводить при температуре 65 °С. Длительность проведения реакции зависит от концентрации матрицы, максимальная чувствительность набора проявляется при инкубации до 60 мин. Для более высокой контрастности между отрицательным и положительным результатами рекомендуем охладить пробирки 10–15 мин.
5. Реакция считается положительной если в отрицательной пробе цвет не изменился (остался красный), а в пробе с образцом изменился (стал желтый).

Условия хранения

Хранить в месте, защищенном от попадания света: при +4 °С – 3 недели; при -20 °С – 1 год; не более 50 циклов замораживания-размораживания.

Условия транспортировки

Транспортировать в термоконтейнерах с охлаждающими элементами. Допускается повышение температуры до температуры окружающей среды при транспортировке до 7 дней.