

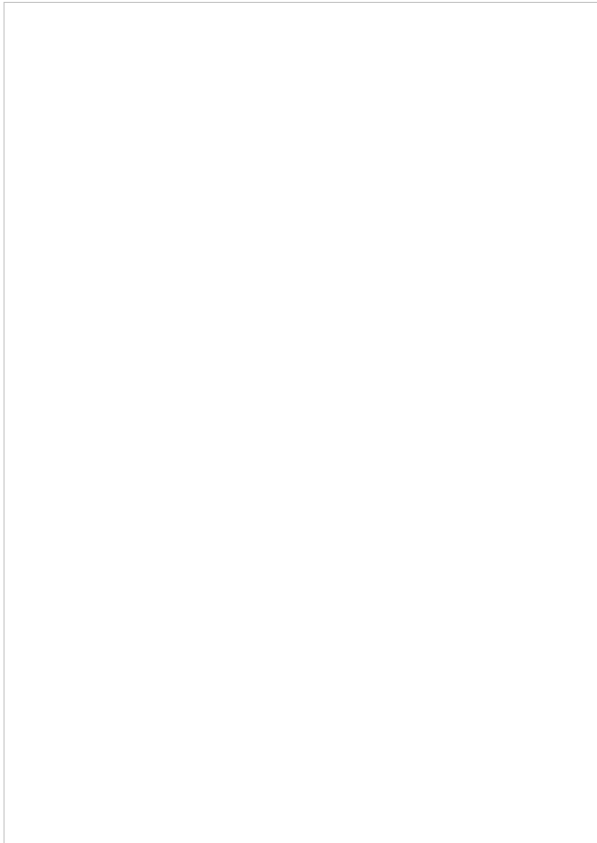
公司产品仅供科学研究使用、不得用于临床诊断！

商品属性：

产品名称	规格	货号
LAMP Loop DP-Probe (订制品)	800Tx25 $\mu$ l	A-PJ1021

描述：

该 DP-Probe(DisPlaceable Probe)为链置换荧光探针，专用于LAMP 的荧光扩增。Loop DP-Probe 在搭配 HotStart Bst4.2 Basic 试剂时表现出极为出色的特异性，可以大幅降低非特异性扩增。LoopDP-Probe Pair 是将 Loop 引物进行改造 (LF/B 任意一条均可)，其由两条标记引物退火组成：荧光猝灭引物 (5'IBFQ+Tail+Loop) 和荧光报告引物 (Tail 互补区+3'发光基团)，其不发光。在 LAMP反应中 Loop 引物渗入到“哑铃”结构，由扩增返回“哑铃”延伸并置换游离的荧光报告引物，累积产生荧光信号。详细的原理可参考文献 PMID: 33626039。有经验的研究人员可根据参考文献自行制备 LAMP Loop DP-Probe Pair，经验不足的人员可委托 来制备，提供三种荧光标记的探针。需要客户提供 Loop 序列，并指明需要的荧光标记 (FAM/JOE/ROX)。



#### eLAMP DP-Probe 试剂的开发简述

##### 1. 引物的粗筛选

无论是变色、试纸条、荧光法 eLAMP 试剂的开发，前期的测试过程，推荐采用价格较低的液体 HotStart Bst4.2 SYBR Green试剂 (进行粗筛选。通常筛选的引物为 3-5 组。10xeLAMP Mix: FIP/BIP=8  $\mu$ M each; LF/LB=4  $\mu$ M each.测试样品: 10e3、100、25、10Copies/管, NTC(16-32 重复)

2.5xBst4.2 SYBR Green Mix 10  $\mu$ l

10x ePrimer Mix 2.5  $\mu$ l

HotStart Bst 4.2 (8U/ $\mu$ l) 1  $\mu$ l

模板 DNA/RNA X  $\mu$ lddH<sub>2</sub>O 到总体积 25  $\mu$ l置于 70°C 反应 45min, 1min 收集一次荧光信号。

良好的引物组具有以下特性 (Ct)：

10e3copies =5-10min; 25copies <15min;10Copies<20min, NTC 均>40min. 以上实验需要反复确认, 以确  
保核心引物的工作效率, 否则重新筛选, 再进行后续的其他测试。

## 2. Loop DP-Probe Pair 的制备

根据上述引物组的筛选情况, 选取最佳引物组。在此基础上改造LF 或 LB, 改造哪一条效果更佳, 必须经过测试。下面以改造 LF为例进行  
说明。通常提供 25x 的 LF DP-Probe Pair (或自行制备)。

### 注意:

(1) 测试试剂更改为 HotStart Bst4.2 Basic 试剂。

(2) 10xeLAMP Mix 引物浓度有调整。

10xeLAMP Mix: FIP/BIP=8  $\mu$ M each; LB=4  $\mu$ M; LF=3  $\mu$ M.

2.5xBst4.2 Basic Mix 10  $\mu$ l

10x ePrimer Mix 2.5  $\mu$ l

25x LF DP-Probe Pair 1  $\mu$ l

HotStart Bst 4.2 (8U/ $\mu$ l) 1  $\mu$ l

模板 DNA/RNA X  $\mu$ l

ddH<sub>2</sub>O 到总体积 25  $\mu$ l

置于 70°C 反应 45min, 1min 收集一次荧光信号 (注意根据探针荧光标记, 选取正确的荧光通道)。与 SYBR Green 结果相比来看, 时间会  
滞后 1-3min。NTC 的控制会明显提升。

此时可进一步做后续的其他项目测试。

3. 如有试剂冻干制备的需求可采用如下几种方案:

(1) (液体试剂)+PrimerMix 自行冻干 (专业人员使用)。

(2) PrimerMix+(引物冻干剂)自行冻干, 加入 (冻干球)。

(3) (HotStart Bst4.2), 全程自行冻干 (专业人员使用)。

(4) 委托 进行全体系冻干。