



EliZyme™ LAMP

Účel použití:

Produkt je určen pouze pro vědecké účely, nikoliv pro diagnostické procedury.

Skladování:

Skladujte při -20 °C. Vyhněte se dlouhotrvajícímu vystavování světelnému záření a při použití uchovávejte komponenty na ledu. Při dodržení těchto skladovacích podmínek si kity plně udrží svou aktivitu, dokud neuběhne expirační doba uvedená na kitu. Při prvním použití doporučujeme alikvotovat enzym a fluorescenční barvivo, aby se zabránilo nadměrnému zamrazování/rozmrazování.

Popis produktu

Produktová řada EliZyme™ LAMP představuje kompletní řešení pro uživatele využívající izotermickou amplifikaci. Produkty EliZyme™ LAMP jsou založeny na rekombinantní polymeráze vytvořené z Bst proteinu exprimovaného v E. coli. Enzym je odvozen z velkého fragmentu DNA polymerázy bakterie *Geobacillus stearothermophilus* (dříve známé jako *Bacillus stearothermophilus*). Tento fragment polymerázy si zachovává svou 5'-3' polymerázovou aktivitu, avšak 5'-3' exonukleázovou aktivitu postrádá. Polymeráza Bst disponuje schopností vytěšňovat řetězce, díky čemuž je velmi vhodná pro různé metody amplifikace nukleových kyselin, včetně amplifikace celého genomu, amplifikace vícenásobným vytěšňováním a izotermické amplifikace. Ačkoli je doporučená reakční teplota 65 °C, enzym funguje dobře v širokém rozsahu teplot 55 °C až 70 °C. Tepelné inaktivace lze dosáhnout při 80 °C.

Polymeráza Bst je navržena pro rychlou amplifikaci a poskytuje tak rychlé výsledky u různých cílových sekvencí a typech vzorků. K zajištění vyšší výtěžnosti a výkonnosti v náročných podmínkách je enzym dodáván s dvousložkovým systémem pufrů. Pro vyšší komfort je produktová řada EliZyme™ LAMP k dispozici také jako 2X Ready MIX, který byl optimalizován k poskytování rychlých a konzistentních výsledků napříč různými cílovými sekvencemi a typy vzorků. Směs obsahuje pokročilý systém pufru, který zajišťuje vysokou výtěžnost a výkonnost i za obtížných podmínek.

Pro real-time detekci pomocí qPCR termocykléru je k dispozici 20X fluorescenční barvivo, které se dodává samostatně.

Obsah

	Kat. číslo	Obsah balení	Velikost balení
EliZyme™ LAMP Pol		1x200 µl (8 U/µl) Bst Pol+	
		1x500 µl 10× buffer A + 1x1 ml	
	EZ2616	5× Buffer B	1600 U



		1×1 ml (8 U/μl) Bst Pol+ 2x1.25 ml 10× buffer A + 3×1.7 ml 5× Buffer B	8000 U
EZ2680			
EliZyme™ LAMP Pol Dye		1×200 μl (8 U/μl) Bst Pol+ 1×500 μl 10× buffer A + 1×1 ml 5× Buffer B + 2×125 μl Dye	1600 U
EZ2716			
		1×1 ml (8 U/μl) Bst Pol+ 2x1.25 ml 10× buffer A + 3×1.7 ml 5× Buffer B + 2×625 μl Dye	8000 U
EZ2780			
EliZyme™ LAMP MIX	EZ2801	1×1.25 ml mix + 1×125 μl Dye	100 rxns
	EZ2805	5×1.25 ml mix + 1×625 μl Dye	500 rxns
EliZyme™ Fluorescent Dye	EZ3002	2×125 μl 20× Dye	200 rxns
	EZ3010	2×625 μl 20× Dye	1000 rxns

	Pufr/MIX	Obsah
EliZyme™ LAMP Pol	10× Buffer A	30 mM MgSO ₄ , 16 mM dNTPs
EliZyme™ LAMP Pol Dye	5× Buffer B	Enhancery pro zvýšení rychlosti reakce
EliZyme™ LAMP MIX	2x mix	6 mM MgSO ₄ , 3.2 mM dNTPs

Složení pufrů bylo optimalizováno pro maximální úspěšnost amplifikace.

LAMP

Inkubujte při 65 °C po dobu 30 minut. U náročných templátů, teplátů s nízkým počtem kopií nebo v případě, že je amplifikace příliš pomalá, lze teplotu upravit (v rozmezí 55 °C a 70 °C) a čas inkubace prodloužit.

V případě detekce signálu pomocí qPCR termocykléru, sledujte reakci pomocí kanálu FAM a odečítejte data každých 10–15 sekund. Pro další analýzu finálního produktu po skončení reakce lze enzym inaktivovat zahřátím na 80 °C po dobu 10 minut.

Primery

Doporučujeme předpokládanou teplotu tání kolem 60 °C (výchozí nastavení Primer Explorer v5). Sadu primerů lze připravit se všemi 4 nebo 6 (pokud zahrnete smyčku) primery. 10X koncentrovaná sada primerů by měla obsahovat: 16 μM FIP, 16 μM BIP, 2 μM F3, 2 μM B3, 4–8 μM LoopF, 4–8 μM LoopB v TE pufru nebo ve vodě.



Složení reakční směsi

EliZyme™ LAMP Pol

Před použitím musí být všechny komponenty rozmražené, krátce promíchané a stočené. Reakce by měla být připravována na ledu.

Komponenty	25 µl reakce	Finální konc.
10x EliZyme™ Buffer A	2.5 µl	1x
5x EliZyme™ Buffer B	5 µl	1x
20x EliZyme™ Fluorescent Dye*	1.25 µl	1x
EliZyme™ Bst Pol (8U/µl)	1 µl	8 U
10x Primer set	2.5 µl	1x
Templatová DNA	variabilní	
PCR voda	Doplnit do 25 µl	

* Volitelná komponenta, lze ji objednat pod katalogovými čísly EZ3002 a EZ3010.

EliZyme™ LAMP Pol Dye

Před použitím musí být všechny komponenty rozmražené, krátce promíchané a stočené. Reakce by měla být připravována na ledu.

Komponenty	25 µl reakce	Finální konc.
10x EliZyme™ Buffer A	2.5 µl	1x
5x EliZyme™ Buffer B	5 µl	1x
20x EliZyme™ Fluorescent Dye	1.25 µl	1x
EliZyme™ Bst Pol (8U/µl)	1 µl	8 U
10x Primer set	2.5 µl	1x
Templatová DNA	variabilní	
PCR voda	Doplnit do 25 µl	

EliZyme™ LAMP MIX

Před použitím musí být všechny komponenty rozmražené, krátce promíchané a stočené. Reakce by měla být připravována na ledu.

Komponenty	25 µl reakce	Finální konc.
2x EliZyme™ Bst Mix	12.5 µl	1x
20x EliZyme™ Fluorescent Dye	1.25 µl	1x
10x Primer set	2.5 µl	1x
Templatová DNA	variabilní	
PCR voda	Doplnit do 25 µl	



LAMP protokol

Krok	Teplota	Čas
Vytěsnění řetězce	55-70 °C*	30-60 min
Deaktivace**	80 °C	10 min

*Standardní inkubace při 65 °C po dobu 30 minut. U náročných templátů, teplátů s nízkým počtem kopií nebo v případě, že je amplifikace příliš pomalá, lze teplotu upravit (v rozmezí 55 °C a 70 °C) a čas inkubace prodloužit. V případě detekce signálu pomocí qPCR termocykléru, sledujte reakci pomocí kanálu FAM a získávejte data každých 10-15 sekund.

** Pro další analýzu finálního produktu po skončení reakce, lze enzym inaktivovat zahřátím na 80 °C po dobu 10 minut.

Výrobce:

ELISABETH PHARMACON, spol. s r. o.

Rokycanova 4437/5, Brno-Židenice 615 00

info@elisabeth.cz | www.elisabeth.cz | tel.: +420 542 213 851



Katalogové číslo



Číslo šarže



Datum expirace



Skladovací podmínky (teplotní limity)



Výrobce



Počet reakcí v balení