



EliZyme™ LAMP OneS MIX

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 fluorescenční barvivo, aby se zabránilo nadměrnému zamrazování/rozmrazování. Pokud mix již obsahuje RTázu, neskladujte jej.

Popis produktu

EliZyme™ LAMP OneS MIX je inovativní enzymový systém navržený tak, aby umožnil rychlou a citlivou reverzní transkripci cílové RNA a následnou izotermickou amplifikaci v jedné zkumavce.

Souprava obsahuje Bst polymerázu, která je dodávána v praktickém formátu 2X koncentrovaného mixu. Tato polymeráza má výjimečnou aktivitu vytěšňování řetězců, což umožňuje syntézu DNA při konstantní teplotě bez nutnosti tepelného cyklování. Tato specifická část proteinu, odvozená z velkého fragmentu DNA polymerázy bakterie *Geobacillus stearothermophilus* (dříve také *Bacillus stearothermophilus*), je zodpovědná za katalýzu syntézy DNA ve směru 5'-3', ale postrádá 5'-3' exonukleázovou doménu.

Reverzní transkripce cílové RNA je prováděna pomocí termostabilní a vysoce aktivní RTázy, která je kombinována s inhibitorem RNáz. Inhibitor RNázy slouží k prevenci degradace RNA kontaminující RNázou.

EliZyme™ LAMP OneS MIX obsahuje pokročilý systém pufru, který zajišťuje vynikající výtěžnost a výkonnost i v náročných podmínkách v přítomnosti inhibitorů. Souprava vyžaduje pouze přidání primerů, templátu a vody. Součástí soupravy je samostatná zkumavka s fluorescenčním barvivem, což umožňuje real-time detekci pomocí jakéhokoliv qPCR termocykléru.

Obsah

	Kat. číslo	Obsah balení	Velikost balení
EliZyme™ LAMP OneS MIX		1×1.25 ml 2× mix + 1×125 µl 20×	
	EZ2901	Dye + 1×200 µl RTase	100 rxns
		4×1.56 ml 2× mix + 1×625 µl 20×	
	EZ2905	Dye + 1×1 ml RTase	500 rxns



	Pufr/MIX	Obsah
EliZyme™ LAMP OneS MIX	2× 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.

Pro zvýšení citlivosti a specifiity doporučujeme na začátku reakce provést rychlý cyklus, který usnadní správné nasednutí primerů na templát RNA (např. 65 °C po dobu 1 minuty, následně teplotu pomalu snižujte až na pokojovou teplotu).

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 OneS 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.
2× EliZyme™ Bst Mix	12.5 μl	1×
20× EliZyme™ Fluorescent Dye	1.25 μl	1×
RTase	2 μl	1×
10× Primer set	2.5 μl	1×
Templátová 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.

** 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



Skladovací podmínky (teplotní limity)



Číslo šarže



Výrobce



Datum expirace



Počet reakcí v balení