

Quick Guide

Beyond the PCR technology,
BIOFACT promises the progress for your research.



BioFACT™

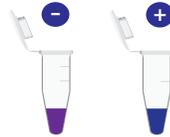
2X Colorimetric LAMP Master Mix (DNA & RNA)

[Cat. No. RL351-10h]

Contents	RL351-10h
BioFACT™ 2X Colorimetric LAMP Master Mix (DNA & RNA)	1.0 mL x 1 ea

- *BST* Polymerase와 고온에 적합한 RTase의 최적화된 조합
- Metal ion 이온 농도 변화에 따라 색상이 변하는 EBT(Eriochrome Black T) dye 포함
- LAMP / RT-LAMP 모든 반응에 사용 가능
- 눈으로 증폭여부 확인 가능: Purple (Negative) → Blue (Positive)

Simple Visualization of Amplification Success



→ Negative reactions are indicated in Purple and positive reactions are indicated by a change to Blue.

Protocol

1) 2X Colorimetric LAMP Master Mix(DNA & RNA)는 ice에서 천천히 녹여줍니다.
- Tube 아래에 Salt가 보일 수 있으나, Vortex 또는 Inverting 하여 완전히 녹이고, 원심 분리한 후 사용하도록 합니다.

2) 아래의 조건으로 LAMP Primer Mixture(10X)를 미리 준비합니다.

Primer	10X Concentrate(Stock)	1X Concentrate(Final)
FIP	16 μM	1.6 μM
BIP	16 μM	1.6 μM
F3	2 μM	0.2 μM
B3	2 μM	0.2 μM
Loof F	4 μM	0.4 μM
Loof B	4 μM	0.4 μM

* 반응 조건에 따라 FIP/BIP 및 Loop primer의 사용량은 조절하십시오.

3) 미리 준비한 LAMP Primer Mixture(10X)를 사용하여 Reaction Mixture를 준비합니다.

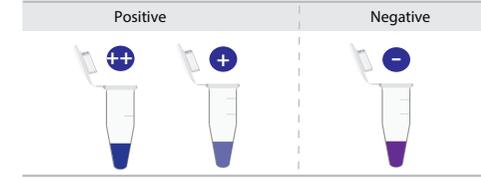
Contents	DNA Target	RNA Target
2X Colorimetric LAMP Master Mix	12.5 μL	12.5 μL
LAMP Primer Mixture(10X)	2.5 μL	2.5 μL
Target DNA	X μL	-
Target RNA	-	X μL
D.W	X μL	X μL
Total Vol.	25 μL	25 μL

4) 반응액을 잘 혼합해 준 후, 원심분리합니다.

5) 65°C에서 30 분 ~ 60분간 Incubation 합니다.

6) 반응이 끝난 샘플을 눈으로 색상 변화를 관찰하고, 사진을 찍거나 스캔하여 결과를 기록합니다.

- Positive Reaction: Purple → Blue
- Negative Reaction : Purple → Purple



Tip.

- 색상 변화가 없을 경우 : Reaction Mixture 준비를 다시 하시거나, 반응 온도/ Primer degradation 여부를 확인해야 합니다.
- 샘플 준비 : D.W 또는 0.1X Elution Buffer(TE)를 추천하며, 샘플 사용량은 반응액의 10%를 넘지 않도록 합니다.

Expiration Date : -20±5°C 보관 시 1년



Please contact us, if you have any question and need help.
T)1670-5695 www.bio-ft.com info@bio-ft.com

2024. 09. 01 (설명서 개정일)

주의사항.

본 제품은 실험 전문 인력이 사용하도록 합니다.

제품보증 및 책임사항

- 설명서에 나온 지침에 따라 제품을 사용하였을 경우에만 모든 제품의 결과를 보증한다.
- 실험자의 잘못된 사용이나 부주의로 인해 문제가 발생하였을 경우에는 교환이 되지 않는다.

안전경고 및 응급조치 요령

- 눈, 호흡기, 피부 접촉을 피한다.
- 눈에 들어갔을 때 : 흐르는 물로 눈을 씻을 것.
- 자극이 지속되면 의사의 진료를 받을 것.
- 피부에 접촉 시 : 접촉된 부위를 비누와 물로 충분히 씻을 것.
- 자극이 지속되면 의사의 진료를 받을 것.
- 동상의 위험이 있으니 반드시 장갑 착용 후 사용할 것.

사용자 유의사항

- 유효기한이 지난 제품의 사용을 금지한다.
- 냉동 제품을 자주 열리고 녹이는 과정을 반복할 경우, 활성이 저하될 수 있으므로 주의한다.
- 필요한 경우, 일정량을 분주하여 보관, 사용하도록 한다.
- 조작성 정해진 순서에 따라 정확히 하여야 하며, 키트는 개봉 후 즉시 사용한다.
- 분리된 검체 DNA / RNA 상태에 따라 상이한 결과를 보일 수 있다.
- 오염된 검체는 부정확한 결과를 나타낼 수 있으므로 주의한다.

알림.

- Genomic DNA / Plasmid DNA / Total RNA는 사용하는 Primer의 종류에 따라 다양한 농도로 사용할 수 있다.
- NTC (Non-Template Control)을 이용하여 실험 환경의 오염을 확인하도록 한다.
- * 실험의 마지막 단계에서 적정량의 DNA template를 넣어준다.
NTC에는 template 대신 RNase / DNase free water를 넣어 Negative control로 사용한다.

FAQs & Troubleshooting

RTase Activity

01. *BST* DNA Polymerase는 Reverse Transcriptase (RTase) 활성이 있습니까?

BST DNA Polymerase, Large Fragment는 RTase 활성을 가지고 있으나, 역전사(Reverse Transcription) 실험에는 활성이 너무 낮아 적당하지 않습니다. 따라서 RT-LAMP에 응용하시려면 전용 RTase를 사용하십시오.

dUTP Incorporation

02. *BST* DNA Polymerase, Large Fragment는 dUTP를 Incorporation 할 수 있습니까?

BST DNA Polymerase, Large Fragment는 dUTP를 Incorporation 할 수 있으나, dTTP와 혼합 사용 시 dUTP의 함량을 50% 미만으로 사용할 것을 권장합니다.

BST Inactivation Condition

03. *BST* DNA Polymerase inactivation 조건은 무엇입니까?

80°C에서 10 min 동안 가열합니다.

Common Reaction Failure

04. *BST* DNA Polymerase를 사용한 실험에 반응 실패의 주요 원인은 무엇입니까?

LAMP(Loop-Mediated Isothermal Amplification) 반응에 Primer Design 이 제대로 되지 않았을 경우 또는 70°C 이상에서 반응할 경우에는 효소 활성이 급격히 감소하는 경우가 있습니다.

Colorimetric LAMP Reaction

05. Colorimetric LAMP 반응 조건은 어떻게 되나요?

보통 65°C 30min을 추천하지만 Positive, Negative control의 색상 변화 시간을 고려해서 incubation 시간을 조정해야 합니다. Target 양을 많이 넣을 경우에는 incubation 시간을 20 min으로 줄여도 되나, Target 양이 적거나 농도가 매우 약할 경우에는 incubation 시간을 60분까지 늘려서 분석해야 할 수도 있습니다.

NTC Reaction

06. NTC가 incubation 후 Blue로 색상이 변했습니다. 왜 그럴까요?

- Cross-over contamination
- 일부 primer 들이 비특이적으로 반응할 경우 보여질 수 있으며 primer design 시 여러 set를 제작하여 적합한 primer로 선별하세요.

Template 사용량

07. Colorimetric LAMP 반응 시 Template 양은 얼마나 사용할까요?

Reaction volume에 20% 이하로 사용하십시오. 예를 들어 LAMP final Volume이 25 μL 일 경우 template를 5 μL 이하로 사용하십시오.

RT LAMP

08. RNA를 이용하여 RT-LAMP 반응을 하려는데 incubation 단계를 RT와 LAMP 반응 온도를 분리해서 incubation 해야 하나요?

Colorimetric LAMP에 사용되는 RTase는 cDNA 활성이 65°C에서 적합하여 RT와 LAMP step 온도를 달리하여 incubation 할 필요가 없습니다.



(주) 바이오팩트
본사/공장 : 대전광역시 유성구 테크노로8로 70

