Loopamp™ DNA増幅試薬 D

蛍光色素（インターカレーター）の適用性確認

Loopamp DNA増幅試薬 D は市販の蛍光色素と蛍光測定装置を用いることで、リアルタイム蛍光検出が可能です。
既に性能が確認されたLAMPプライマーと Loopamp DNA増幅試薬 D および 市販の蛍光色素とPCR測定装置を用いて測定を行い、蛍光色素を用いた検出が可能であることを確認しました。

● 試験方法

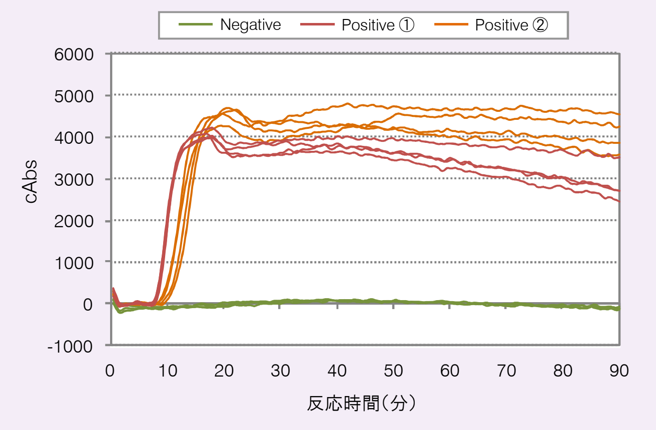
プライマー	検出対象	反応温度	反応時間	AMV添加※
肺炎マイコプラズマ検出用	DNA	66.0 ˚C	30秒×180サイクル	
H1 pdm 2009 インフルエンザウイルス（H1P）検出用	RNA	63.0 ˚C	30秒×180サイクル	○

※反応時に AMV Reverse Transcriptase（1.5 U/μL）を 1.0 μLを添加

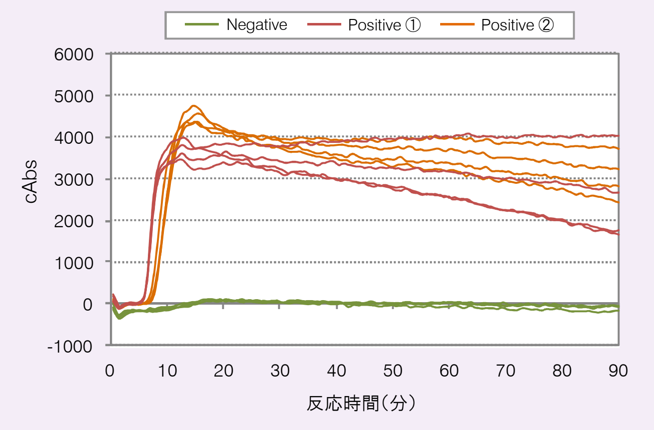
上記のLAMPプライマー、蛍光色素、リアルタイムPCR装置を用いて陰性サンプル（Negative）および陽性サンプル2種（Positive①、Positive②）を既定の方法で測定しました。

● 測定結果 （社内データ）

肺炎マイコプラズマ検出用プライマー



H1P検出用プライマー



蛍光色素を使用する場合の操作方法例

（1） 反応チューブ（Dried DNA Amplification Reagent）にプライマーミックスを15.0 μLずつ分注します※1。

（2） サンプル溶液 又は コントロールを 10.0 μLずつ添加します※1。

（3） 既定の方法で乾燥試薬の溶解操作を行った後、蛍光測定装置にセットして反応をスタートさせます（60～67˚C、30～60分間※2）。

（4） 酵素失活（80˚C、5分間 又は 95˚C、2分間）

（5） 蛍光測定・判定

※1　最終LAMP反応液量が 25.0 μL となるようにプライマーミックスとサンプル溶液の添加量を調整します。

※2　設計したプライマーによって至適条件が異なります。

○ プライマーミックス調製例

Primer：	FIP	40 pmol
	BIP	40 pmol
	LF※3	20 pmol
	LB※3	20 pmol
	F3	5 pmol
	B3	5 pmol
0.008mM　Oxazole Yellow		1.0 μL
AMV Reverse Transcriptase（1.5U/μL）※4		（1.0 μL）
Distilled Water		X μL
Total		15.0 μL /テスト

※3　Loop primer を入れることで増幅時間が約1/3に短縮されます。
※4　AMV Reverse Transcriptase は必要に応じて添加してください。

製品の使用上又は取扱い上の注意については、使用説明書をご参照ください。

製造販売元　栄研化学株式会社
〒329-0114　栃木県下都賀郡野木町野木 143番地

8138 | AMK
2015年6月作成