



FL Green Intercalation Mix

製品コード: NE6071

I 製品説明

FL Green Intercalation Mix は、Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP) 法による等温核酸増幅蛍光検出用試薬です。本製品は、二本鎖 DNA 結合性蛍光色素*、耐熱性無機ピロホスファターゼを含んでおり、LAMP 法により増幅した DNA を蛍光検出装置によって検出することができます。LAMP 法用 DNA 増幅試薬と組み合わせて使用することが可能です (DNA 増幅試薬は別売です)。

*励起波長: 450-500 nm (Max. 487 nm)、蛍光波長: 480-560 nm (Max. 503 nm)

使用上の注意

- 本品は、試薬 (試験研究用) として販売しているものです。医療行為及び臨床診断などの目的では使用できません。また、弊社の承認を得ずに製造原料として使用することはできません。
- 本品の使用にあたっては、取扱説明書の記載内容どおりに行ってください。取扱説明書記載の内容と異なったお取り扱いによるトラブルにつきましては、弊社では責任を負いかねます。
- 本製品は -20°C で遮光保存し、納品後 6 ヶ月以内に使用してください。
- 廃棄方法は、国または地方自治体の規則に従ってください。
- 本品は、リアルタイム PCR 装置等の蛍光検出装置に対応した試薬です。LAMP 法専用リアルタイム濁度測定装置 (栄研化学株式会社 Loopamp EXIA[®]、LA-320C、RT-160C/株式会社ニッポンジーン エンドポイント濁度測定装置 LT-16) には使用出来ません。
- LAMP 法は栄研化学株式会社が特許を保有しています。
- 北米地域では使用できません。
- 高解像度融解曲線解析 (High-Resolution Melting (HRM))^{**}には使用できません。
**増幅産物などの DNA フラグメント上の配列に多様性 (例: SNPs、変異、メチル化) を迅速で効果的に見出すことができるアルゴリズム。

II 構成品

内容

FL Green Intercalation Mix	750 µl x 1 本
----------------------------	--------------

III 保存

-20°C にて必ず **遮光保存** してください。

IV 使用方法

- リアルタイム PCR 装置等をご利用になる場合、本製品を **10x** としてご利用ください (25 µL の反応系に 2.5 µL 添加)。
- LAMP 法用測定装置 LF-8 Plus (Code No. NE4041) をご利用になる場合は、本製品を **20x** としてご利用ください (25 µL の反応系に 1.25 µL 添加)。
- 各種蛍光検出装置によって、検出できる蛍光強度は異なります。上記の使用濃度で検出した蛍光値が飽和している場合、本製品の添加量を減らし調整してください。

使用例 (10x 使用の場合)

- 本品を室温で完全に融解し、ボルテックスミキサーにて混合して均一にした後、スピンドウンを行い、試薬を氷上に静置する。
- 下記の反応例を参考に試薬を調製する。

DNA 増幅試薬 (各社)	~ µL
10x LAMP Primer Mix ^{††}	2.5 µL
Bst DNA polymerase ^{†††}	1.0 µL
FL Green Intercalation Mix (本製品)	2.5 µL
Template	~ µL
Total	up to 25.0 µL

^{††}10x LAMP Primer Mix:

例) 16 μM FIP, 16 μM BIP, 2 μM F3 Primer, 2 μM B3 Primer, 8 μM Loop Primer F, 8 μM Loop Primer B, 10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1 mM DTT

^{†††}Bst DNA Polymerase:

使用する DNA 増幅試薬に既に入っている場合、添加する必要はありません。

3. 調製した反応液を蛍光検出装置の推奨チューブに添加し、よく混合した後、スピンドウンを行い温調可能な蛍光検出装置にセットして測定(遺伝子増幅モニタリング及び会合曲線解析もしくは融解曲線解析)を開始する。蛍光検出装置の詳細な設定方法は、各蛍光検出装置のマニュアルに従う。
4. 60~68°C^{††††}にて 30 分間 LAMP 反応を行った後、会合曲線解析もしくは融解曲線解析を行う。
^{††††}10x LAMP Primer Mix の設計等によって最適な温度が異なるため、検討を行って反応温度を決定する。
5. 蛍光検出装置として、リアルタイム PCR 装置を使用する場合は、蛍光波長の設定を ResoLight Dye もしくは SYBR[®] Green I を測定する波長に設定する。

V Q & A

質問	回答
蛍光検出に使用できる装置にはどのようなものがありますか。	リアルタイム PCR 装置および LAMP 法用測定装置 LF-8 Plus (Code No. NE4041)がご利用可能です。
本製品添加後に DNA 増幅を濁度測定装置で検出できますか。	本製品は、耐熱性無機ピロホスファターゼを含むため、ピロリン酸の生成による不溶物質の形成は起こりません。濁度測定装置では検出できませんので、リアルタイム PCR 装置などの蛍光検出装置をご利用ください。
検出した蛍光値が飽和しています。どのように対応したら良いですか。	蛍光検出範囲内に納まるように、本製品の添加量を減らしてください。