

RNA 扩增试剂盒说明书

(使用前请详细阅读该说明书)

【试剂名称】 RNA 扩增试剂盒**【目录号】** 051021M**【产品保存】** -25~18°C, 有效期为 12 个月**【包装规格】** 48 测试**【产品简介】**

本产品为 RNA 扩增试剂盒, 可用于人源性、动植物源性病原体及其他细菌、真菌、病毒、寄生虫等核酸的快速扩增。本试剂盒通过 *Bst* 聚合酶、四种核苷酸 (dNTPs)、引物等成分的作用, 在恒温条件下 (60~65°C) 快速、特异地完成核酸扩增, 通过仪器判读结果。

【主要组成成份】

组分名称	规格×数量
反应液 RM-SCI	630 μl×1 支
<i>Bst</i> 聚合酶 Bst-SCI	55 μl×1 支
逆转录酶 AMV-SCI	10 μl×1 支
荧光染料 CS-SCI	40 μl×1 支
密封液 OIL-SCI	1 ml×1 支
超纯水 DW-SCI	1 ml×1 支
对照引物 PM (引物混合物) PM-SCI	20 μl×1 支
阳性对照 PG-SCI	20 μl×1 支
阴性对照 NG-SCI	20 μl×1 支
说明书	1 份

使用指南

实时荧光法

【适用仪器】 DHelix1610, DHelix3210, 荧光 PCR 仪 (ABI 7500, CFX 96, Mx 3005P, LineGene 9600), Deaou-308c, Genie II 等扩增仪。

【检验方法】

1. 反应体系的配制。(在试剂准备区进行, 冰上操作)

推荐扩增反应体系 (见表 1, 以 25 μL 为例)

表 1 反应体系参考

组分名称	加入量	建议加入量
反应液 RM-SCI	12.5 μl	12.5 μl
内引物 (FIP/BIP) (终浓度)	0.4~1.6 μM	1.0 μl (引无 PM)
外引物 (F3/B3) (终浓度)	0.1~0.2 μM	
环引物 (LF/LB) (可选) (终浓度)	0.1~0.8 μM	
<i>Bst</i> 聚合酶	0.8 μl	0.8 μl
逆转录酶	0.2 μl	0.2 μl
荧光染料	0.5 μl	0.5 μl
RNA 模板	1~100 ng	2.0 μl
加超纯水至	25 μl	25 μl

上述试剂混匀后, 加入一滴密封液, 混匀离心, 盖紧管盖。

2 LAMP 扩增反应。(在扩增区进行)

将上述反应管放入 60~65°C 的扩增仪内, 反应 20~60 min 后取出反应管 (反应温度及时间根据具体情况而定;

试剂盒对照品最佳扩增温度为 63°C，最佳反应时间为 60 min)。

使用荧光 PCR 仪，请选用 FAM 通道，反应程序设置可参考图 1，将 63°C 15 s, 63°C 45 s 作为一个循环，于 63°C 45 s 处收集荧光信号。使用其他仪器请按照仪器说明书操作。

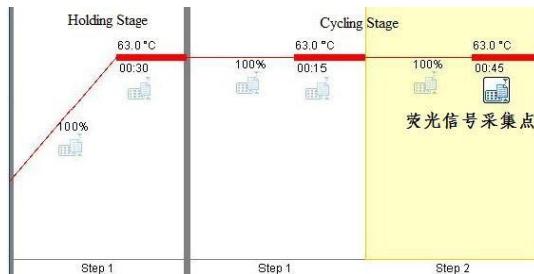


图 1 荧光 PCR 仪反应程序设置图

3. 结果检测

若有“S”型扩增曲线，则判断为阳性（有核酸扩增），若无“S”型扩增曲线，则判断为阴性（无核酸扩增），见图 2。

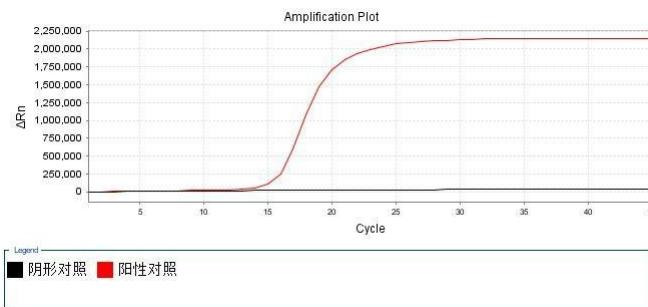


图 2 检测结果示意图

【注意事项】

- 实验过程中穿戴工作服和乳胶手套，建议使用带滤芯的吸头。
- 试剂使用前要完全解冻，但应避免反复冻融，建议使用前离心 30 秒。
- 实验请按实验室区操作，试剂配制等步骤请严格按照说明书的要求在冰上操作。
- 阳性对照品最适扩增温度为 63°C，最适反应时间为 60 min，提高或降低反应温度将影响扩增效率，延长扩增时间可能会出现非特异性扩增。
- 反应结束后，开盖易造成气溶胶污染，切忌开盖。
- 不同批号试剂请勿混合使用，请在有效期内使用试剂盒。
- 本试剂盒仅供科研使用，请勿用于其他用途。

【生产企业】

广州双螺旋基因技术有限公司

网址: www.dhelix.cn

电话: 020-85671013

传真: 020-34037175

地址: 广州国际生物岛螺旋四路 7 号标准产业单元二期第三栋第三层 302 单元

附件: LAMP 引物合成及配制方法

1. 引物级别: 建议采用 PAGE 或者 HPLC 纯化的引物。
2. 引物比例: 建议内引物/环引物/外引物=8/4/1。
3. 引物配制: 建议按照以下方式配制混合引物。
 - 1) 将装有引物干粉的离心管放进离心机, 12000 rpm 离心 1 min。
 - 2) 根据引物干粉的摩尔总量溶解干粉，配制母液，建议内引物和环引物的母液浓度为 200 pmol/ μl，外环引物的母液浓度为 100 pmol/ μl。例如：内引物 (FIP/BIP) 环引物 (LP/LF) 和外引物 (F3/B3) 的干粉各有 X nmol、Y nmol 和 Z nmol，则分别加入溶解干粉的纯化水的量为 X×5 μl、Y×5 μl 和 Z×10 μl，室温下放置 5 min，振荡混匀。
 - 3) 将已溶解的引物放进离心机, 12000 rpm 离心 1 min。
 - 4) 引物工作液配制: 按照 2) 中建议的母液浓度, 配制 350 μl (根据需要按比例增减) 引物工作液，则分别取 F3 和 B3 母液各 17.5 μl、FIP 和 BIP 母液各 70 μl、LB 和 LF 母液各 35 μl、超纯水 105 μl 于 1.5ml 离心管中充分混匀，所配引物工作液各组分浓度为: 40 μM 内引物、20 μM 环引物、5 μM 外引物。