

RT-试纸型核酸扩增试剂盒（ERA法）使用说明书

（产品货号：KS106）

试剂盒标配材料

组分	24T	96T
溶解剂 DA（白盖）	1.2mL	1.2mL*2
激活剂 MC（绿盖）	250μl	250μl
阳性引物 PM	180μl	180μl
阳性探针 PB（蓝盖）	15μl	15μl
阳性标准品（红盖）	80μl	80μl
RT-试纸扩增试剂（铝箔袋）	24T*1	24T*4
使用说明书	1份	1份

检测下限

本试剂盒最低检测下限为10-100copies/测试（依据引物筛选优化程度和检测手段）

存储条件及有效期

存储在-20±5℃、干燥、避光的环境，有效期1年。

详细实验方案（反应体系为 50μl）

- 按照以下所述制备每份样本的预混液：

组分	每管加样量/μl
溶解剂 ^[1]	20
正向引物 (10μM)	2.1
反向引物 (10μM)	2.1
探针 (10μM)	0.6
模板RNA	2≤x≤10
ddH ₂ O	23.2-x
体积	48

充分振荡混匀并短暂离心。

- 对于每份样本，将48μl预混液转移至每管RT-试纸扩增试剂^[2]中。振荡混匀^[3]直到扩增试剂重悬，并短暂离心。
- 对于每份样本，在反应管盖上加上2μl激活剂^[4]，小心盖紧管盖，通过短暂离心使激活剂进入预混液中。短暂振荡混匀^[5]并再次快速离心。
- 将反应管放入合适的恒温荧光检测仪（40-42℃）中孵育30分钟。
- 反应结束后，保存数据，试纸条（卡）详细操作见试纸条（卡）附带说明书。

操作注意要点：

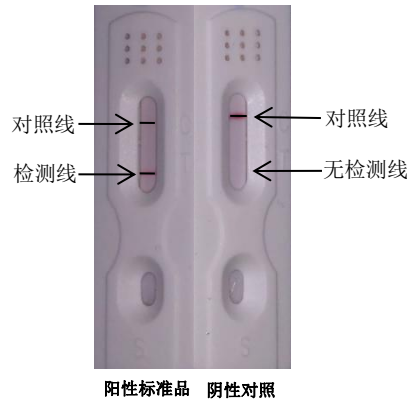
[1] 溶解剂需完全融化混匀，否则会对实验产生影响。

- [2] RT-试纸扩增试剂在使用前放置室温平衡10min，剩余未用尽的试剂应注意防潮密封保存。
- [3] 此处振荡混匀旨在将扩增试剂重悬，使体系分散均匀，混匀时间应在3-5s，3000rpm。
- [4] ERA反应是靠激活剂来启动，一旦加入激活剂，务必立即上机孵育。
- [5] 此处振荡混匀时间应在3s左右，时间过长会导致检出时间延后。

阳性对照反应

RT-试纸型核酸扩增试剂盒包括阳性引物、探针和阳性标准品（浓度： $10^8\text{cp}/\mu\text{l}$ ），可用于检测试剂盒各组分的活性。检测方法与上述实验方案相同（阳性引物Primer mix添加量为 $4.2\mu\text{l}$ ，探针添加量 $0.6\mu\text{l}$ ），反应温度推荐使用 40°C 。如果使用横向流动试纸条检测作为判读系统，阳性对照反应的预期结果应为试纸条上有一条清晰的有色检测线（以及独立的对照线），相反，阴性对照（无模板）在检测线处不产生任何信号。阳性对照反向引物带有FAM标记，而探针带有生物素标记。

组分	每管加样量/ μl
溶解剂	20
阳性引物 PM	4.2
阳性探针 PB	0.6
ddH ₂ O	21.2
阳性标准品	2
激活剂	2
体积	50



*阳性标准品、阴性对照检测板条带如上右图

注意事项

1. 本试剂盒仅用于非医用检测；应存储于 $-20\pm 5^\circ\text{C}$ 、干燥、避光的环境。
2. ERA扩增产物的气溶胶易造成假阳性，为避免交叉污染，试剂配制区与扩增分析区应分隔开。
3. 实验时应设置不加模板的空白对照，以确认是否有待扩增核酸的污染。
4. 在不同的核酸提取方法下，所提取的样本RNA含量和纯度会有差异，可能会导致出现扩增效率不一的现象（详情请查阅PCR抑制剂：乙醇、苯酚、血红素等等）。
5. 阳性标准品建议添加 $2\mu\text{l}$ ，待检样本添加量范围为 $2\mu\text{l}\sim 10\mu\text{l}$ 。如果待检样本浓度较高，则仅需添加 $2\mu\text{l}$ ，反之，则加大样本添加量，最大体积不超过 $10\mu\text{l}$ 。
6. 如果模板RNA拷贝数低，请在反应5分钟后取出反应管，振荡混匀并短暂离心，再放回恒温仪中。
7. 反应结束后通常使用终点检测法来分析反应结果，我们建议使用简单的夹心检测技术来确定靶标是否存在以及扩增是否发生，一种方法是侧向流检测试纸条/侧向流检测卡（货号：TS101/TS102）或其他横向流动试纸条。
8. 反应结束后也可采用琼脂糖凝胶电泳（AGE）进行检测评估反应产物或用于其他下游应用（例如TA克隆、测序），请先纯化ERA扩增产物。
9. 扫码关注公众号，输入“问题解答”获取操作视频及常见问题解决方案。



欢迎扫码关注