基础型核酸扩增试剂盒（ERA法）使用说明书

（产品货号：KS101）

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
6* Loading Buffer（紫盖）	1mL	1mL
基础扩增试剂 （铝箔袋）	24T*1	16T*6
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）

1. 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)	2.5
反向引物 (10μM)	2.5
模板DNA	2≤x≤10
ddH_2O	23-x
体积	48

充分振荡混匀并短暂离心。

2. 对于每份样本，将48μl预混液转移至每管基础扩增试剂[2]中。振荡混匀[3]直到扩增试剂重悬，并短暂离心。
3. 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。
4. 将反应管放入恒温仪（37-40℃）中孵育20分钟。
5. 孵育结束后[6]，应立即使用产品自带6*Loading Buffer，按所需量（每10μl样品加1.5μl Loading Buffer）添加后，56℃孵育5分钟，然后在琼脂糖凝胶上跑胶，或纯化ERA扩增产物[7]进行其他下游应用。

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] 基础扩增试剂在使用前放置室温平衡10分钟，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。

[6] 孵育结束后必须**立即终止反应**【纯化或者使用**蛋白酶K（5μg/100μl）**消化处理】，否则反应会继续进行，产生大量非特异性扩增，影响实验结果。

[7] ERA是一类多酶反应体系（即酶促重组等温扩增技术），若不做纯化直接跑核酸电泳胶，会堵塞胶孔，核酸无法跑出。

注意事项

1. 本试剂盒仅用于非医用检测；应存储于-20±5℃、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DNA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. 待检样本添加量范围为2μl~10μl。如果待检样本浓度较高，则仅需添加2μl，反之，则加大样本添加量，最大体积不超过10μl。
6. 如果模板DNA拷贝数低，请在反应4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. 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