



## RNA 恒温快速扩增试剂盒（胶体金试纸条型）-II

### 使用说明书

#### 【产品名称】

通用名称：RNA 恒温快速扩增试剂盒（胶体金试纸条型）

#### 【包装规格】

货号：EDN-RT01

规格：48 份/盒

#### 【原理概述】

本试剂盒基于一种常温恒温核酸快速扩增技术：在常温恒温下，特殊修饰的反转录酶利用特异性引物和模板 RNA 合成 cDNA 链，反应体系中的重组酶、单链 DNA 结合蛋白和 DNA 聚合酶以新合成的 cDNA 链为模板进行快速核酸扩增反应。依赖 nfo 酶的作用，加入根据模板设计的特异的分子探针，使用胶体金技术（三明治夹心法）可以对最终结果进行检测。

#### 【产品特点】

本试剂盒具有灵敏度高、特异性强、反应时间短（仅需 12 min）等优点，反应组分为干粉状态，操作简便，易于保存。

本试剂对设备要求低，金属浴、水浴锅等即可进行反应操作，无需购买 PCR 扩增仪等价格高昂的专属设备。

#### 【引物设计】

建议使用长度在 30-35 bp 的引物，引物过短会影响扩增速度和检测灵敏度；下游引物的 5'端标记一个修饰基团（常用生物素）。引

物设计避免形成二级结构而影响扩增；扩增子长度建议在 150-500 bp。

#### 【荧光探针设计】

在上下游引物中间，设计一段长度为 46-52nt 与目的片段互补的序列；5'端修饰一个抗原标记（典型 FAM）；在 5'端和 3'末端的中部位置标记一个 dSpacer（四氢呋喃，THF），作为 nfo 的识别位点；3'末端标记一个修饰基团，例如胺基、磷酸基团或 C3-Spacer 等。

#### 【试剂盒组成】

组成	含量
A buffer	1.6 mL×1 管
B buffer	150 μL×1 管
试剂	48 份
使用说明书	1 份

注：考虑到核酸降解问题，RNA 系列产品不提供正对照模板和引物探针。

#### 【试剂盒储存】

1. 运输温度：≤ 20 °C 的恒温环境；
2. 储存条件：储存温度 ≤ -20 °C (± 5 °C) 恒温环境，避光保存，避免重压、反复冻融；
3. 产品有效期：14 个月；
4. 生产日期见外包装。



**【操作步骤】**

提前 30 分钟将试剂盒所需组分取出，室温融化，震荡混匀。

- (1) 每个干粉反应管加入 29.4  $\mu\text{L}$  A buffer  
(注意：A buffer 需完全融化混匀，否则会对实验效果产生影响)；
- (2) 每个反应管分别加入 2  $\mu\text{L}$  上游引物、2  $\mu\text{L}$  下游引物和 0.6  $\mu\text{L}$  探针（引物和探针浓度为 10  $\mu\text{M}$ ，对于多个反应、步骤 1 和步骤 2 可以混合后再分装至反应管中)；
- (3) 向反应管中依次加入 2  $\mu\text{L}$  ~ 13.5  $\mu\text{L}$  核酸模板（可根据实际需求调整加入模板的体积，并相应调整加入的 ddH<sub>2</sub>O 体积，至模板与 ddH<sub>2</sub>O 总体积为 13.5  $\mu\text{L}$ )；
- (4) 最后向反应管中加入 2.5  $\mu\text{L}$  B buffer 并充分混合（请务必上下颠倒甩动反应管 8-10 次进行混匀；对于多个反应，建议将 B buffer 加至反应管的盖子内侧上下颠倒后混匀)；
- (5) 混匀后，将反应液甩（或快速离心）至管子底部，然后立即将反应管放入恒温设备中 42  $^{\circ}\text{C}$  孵育 8-12 min；
- (6) 反应结束后，取 10  $\mu\text{L}$  加入含有 190  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O 的离心管中，混合均匀后，将胶体金试纸条的样品端插入离心管中平衡，5 min 内观察质控线与检测线判读结果。

**体系配制**

组分	体积 ( $\mu\text{L}$ )
A buffer	29.4
上游引物(10 $\mu\text{M}$ )	2
下游引物(10 $\mu\text{M}$ )	2
探针(10 $\mu\text{M}$ )	0.6
ddH <sub>2</sub> O 和核酸模板	13.5
B buffer	2.5
总体积	50

**【注意事项】**

1. 由于试剂盒灵敏度非常高，在进行反应时请注意避免核酸污染，并设置空白对照；
2. 使用时请取出实验所需的 MIRA 反应单元的数量，剩余部分请置于存储条件下。

