

## 产品简介

ATG® EIA Nfo Kit 是由本司自主开发的基于重组酶聚合酶介导的恒温扩增体系，以 DNA 或 cDNA 为模板的恒温扩增探针版试剂盒。可用于核酸荧光定量检测或核酸免疫试纸条检测，具有扩增产量高、特异性强、稳定性好、假阳性低的优点。配合针对目的基因设计的特异性探针，本品是利用 Nfo 进行探针特异识别和水解，可以对靶基因进行准确定量、检测，重复性好，可信度高。本试剂盒最低检出下限为 10~100 copies（根据不同的引物筛选优化程序和检测手段）。

## 产品组成

组 分	MM301 (100 rxn)
EIA Nfo Enzyme Mix	1.2 ml
EIA Nfo Reaction Buffer	2 × 1.25 ml
Mg Activator	300 µl

## 储存条件

-20°C保存，于-20 ~ 0°C运输。▲避免反复冻融。避光保存

## 实验流程

组 分	50 $\mu$ l/rxn
EIA Nfo Enzyme Mix	11.5 $\mu$ l
EIA Nfo Reaction Buffer <sup>a</sup>	20 $\mu$ l
正向引物 (10 $\mu$ M)	2.4 $\mu$ l
反向引物 (10 $\mu$ M)	2.4 $\mu$ l
Nfo probe (10 $\mu$ M)	0.75 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O	Up to 45.5 $\mu$ l

- 按以上体系配制好，充分振荡混匀后短暂离心<sup>b</sup>，加入浓度 5 mg/mL 的肌酸激酶 (Creatine Kinase, CK) 1  $\mu$ l，轻轻吹打混匀。(客户需自备 CK)
- 对于每份样本，在反应管盖上加上 2.5  $\mu$ l 的激活剂<sup>c</sup>和 1  $\mu$ l 的模板 (阳性标准品)，小心的盖紧管盖，上下颠倒 10 次，轻微震荡涡旋离心。
- 将反应管放至荧光恒温仪中，反应温度 37-42°C，热盖温度 50°C，恒温扩增 20-30 分钟。(提前预热好恒温仪)
- 设置荧光定量 PCR 仪每 30 s 读取一次荧光信号；若使用核酸免疫试纸条检测，则反应结束后吸取适量反应液滴在试纸条加样处，水平放置，观察试纸条变化。
  - Reaction Buffer 使用前需要放在常温中使试剂的温度达到室温，否则对实验结果会产生影响。
  - 振荡混匀旨在使试剂组分分散均匀，也可轻轻吹打；短暂离心 3000 rpm，3~5 sec 即可。
  - 扩增反应需要激活剂进行启动，为防止产生引物二聚体以及其他非特异性扩增，一旦加入激活剂，务必马上上机孵育。

## 注意事项

- 本试剂盒仅用于非医用检测；应存储于-20°C、干燥、避光的环境。
- 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。
- 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。
- 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。
- 阳性标准品建议添加 1-5  $\mu$ l，待检样本添加量范围为 1-10  $\mu$ l。如果待检样本浓度较高，则仅需添加 1  $\mu$ l，反之，则加大样本添加量，最大体积不超过 10  $\mu$ l。
- 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。