

# ATG<sup>®</sup> EIA Basic Kit (Lyophilized)

MM101-2



产品说明书  
PRODUCT MANUAL

南京巨匠生物科技有限公司  
ATG BIOTECHNOLOGY CO.,LTD

## 目录 Product Manual

产品简介 .....	1
产品特点 .....	1
产品组成 .....	1
储存条件 .....	1
实验方案 .....	1
注意事项 .....	2

## 产品简介

ATG® EIA Basic Kit (Lyophilized)是由本司基于重组酶聚合酶介导的恒温扩增体系开发的,可以 DNA 或 cDNA 为模板的恒温扩增基础版试剂盒冻干粉型,可用于核酸电泳检测,具有扩增产量高、特异性强、稳定性好、假阳性低的优点。若配合针对目的基因设计的特异性探针,利用 Exo III (ATG #E302)或 Nfo (ATG #E303) 等酶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/test (根据不同的引物筛选优化程序和检测手段)。

## 产品特点

稳定性强:制成完全一体化的冻干粉,易于运输储存;

复溶性好:将 Enzyme Mix 与 Reactin Buffer 进行优化兼容混合冻干成晶体,复溶迅速;

性能更优:冻干制剂活性保存时间更长,重复性好,灵敏度极高;

便捷性高:每反应独立冻干封存于离心管中,易于操作,避免污染。

## 产品组成

组 分	MM101-2 (96 rxns)
EIA Basic Lyophilized powder Mix	96 管
EIA Basic Rehydration Buffer	4 × 750 µl
Mg Activator	300 µl
6 × DNA Loading Buffer (PRK Plus)	1 ml

## 储存条件

-20°C保存,于-20~0°C运输。▲避免反复冻融,避光保存。

## 实验方案

组 分	50 µl/rxn
EIA Basic Lyophilized powder Mix	1 管
EIA Basic Rehydration Buffer <sup>a</sup>	30 µl
正向引物 (10 µM)	2.4 µl
反向引物 (10 µM)	2.4 µl
ddH <sub>2</sub> O	to 46.5 µl

1. 按以上体系配制好,充分振荡混匀后短暂离心<sup>b</sup>。
2. 对于每份样本,在反应管盖上加上 2.5 µl 的激活剂 Mg Activator<sup>c</sup>和 1 µl 的模板,小心的盖紧管盖,上下颠倒 10 次,轻微震荡涡旋离心。
3. 将反应管放至恒温仪中,反应温度 37~42°C,热盖温度 50°C,恒温扩增 20~30 min (提前预热好恒温

仪)。

4. 孵育结束后，方法一：使用试剂盒自带的 6×DNA Loading Buffer (已添加蛋白酶 K)，按照每 10 μl 产物 1.5 μl 的 6×DNA Loading Buffer 进行添加，吹打混匀后，56°C 孵育 5 min，然后进行琼脂糖凝胶跑胶<sup>d</sup>。方法二：纯化扩增产物，取纯化试剂 (Tris-苯酚：氯仿：异戊醇 = 25:24:1 震荡混匀后取下层液相) 与扩增产物等体积混合后震荡混匀，高速离心后的上层液体即为纯化的扩增产物，进行琼脂糖凝胶跑胶。

- a. EIA Basic Rehydration 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。
- b. 振荡混匀旨在使试剂组分散均匀，也可轻轻吹打；短暂离心 3000 rpm，3~5 sec 即可。
- c. 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。
- d. 恒温扩增试剂盒是多酶反应体系。若不做纯化，也可用蛋白酶 K (5 μg/μl) 56°C 消化 5 min，但直接跑核酸电泳，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°C、干燥、避光的环境。
2. 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 1~10 μl。如果待检样本浓度较高，则仅需添加 1 μl，反之，则加大样本添加量，最大体积不超过 10 μl。
6. 如果模板 DNA 拷贝数低，请在反应 4 min 后取出反应管，振荡混匀并短暂离心，再放回恒温仪中。