

ATG[®] RT-EIA Basic Kit (CK, Free)

MM102

ATG

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
产品组成	1
储存条件	1
实验方案	2
注意事项	3

产品简介

EIA 恒温扩增系统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，RT-EIA Basic Kit 是以 RNA 为模板的恒温扩增基础版试剂盒。可用于核酸电泳检测，具有扩增产量高、特异性强、稳定性好的优点。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 (根据不同的引物筛选优化程序和检测手段)。

产品组成

组 分	MM102 (100 rxns)
RT-EIA Basic Enzyme Mix	2 × 750 μl
RT-EIA Basic Reaction Buffer	2 × 1.25 ml
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	用量 (50 μ l/rxn)
RT-EIA Basic Enzyme Mix	14.6 μ l
RT-EIA Basic Reaction Buffer ^a	20 μ l
正向引物 (10 μ M)	2.4 μ l
反向引物 (10 μ M)	2.4 μ l
ddH ₂ O	to 45.5 μ l

1. 按以上体系配制好，充分振荡混匀后短暂离心^b，加入浓度 5 mg/mL 的肌酸激酶 (Creatine Kinase, CK) 1 μ l，轻轻吹打混匀。(客户需自备 CK)
 2. 对于每份样本，在反应管盖上加上 2.5 μ l 的激活剂^c和 1 μ l 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 (37-42°C) 中孵育 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 \times DNA Loading Buffer (已添加蛋白酶 K)，按照每 10 μ l 产物 1.5 μ l 6 \times 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^d。
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. 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。
 - 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 μ g/ μ l) 56°C 消化 5 min，但直接跑核酸电泳胶，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°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 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。
5. 阳性标准品建议添加 1-5 μl ，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 RNA 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。



025-85653525

www.atgbiotechnology.com

南京市栖霞区江苏生命科技园D6幢710室