

RT-LAMP pH Sensitive Dyestuff Kit

产品信息

产品名称	产品编号	规格
RT-LAMP pH Sensitive Dyestuff Kit	13906ES65	100 T
	13906ES80	1,000 T
	13906ES92	10,000 T

产品描述

本产品将 LAMP 可视光染料整合到 buffer 中，buffer 中含 dATP、dCTP、dGTP 和 dUTP 等 Bst II DNA Polymerase 扩增必须的组分，同时包含 pH 敏感指示剂，试剂盒含有无甘油 Bst II DNA Polymerase、UDGase、RT enzyme 等，可用于冻干反应体系的配制；同时减少了加样操作，降低操作误差，在极大程度上抑制假阳性反应，提高检测的准确度。本试剂盒具有较高的扩增效率和灵敏度，扩增结果可肉眼判断，阳性反应孔为橙黄色，阴性反应空为洋红色，反差极大。

产品组分

组分编号	组分名称	产品编号/规格		
		13906ES65 (100 T)	13906ES80 (1,000 T)	13906ES92 (10,000 T)
13906-A	2.5×pH Sensitive Reation Buffer	1 mL	10 mL	100 mL
13906-B	无甘油 RT 酶 Mix	30 μL	300 μL	3 mL
13906-C	无甘油 Bst 酶	50 μL	500 μL	5 mL

运输和保存方法

Part I: 组分 13906-A 【2.5×pH Sensitive Reation Buffer】干冰运输，-20℃ 保存，有效期 6 个月。

Prat II: 组分 13906-B/C 【无甘油 RT 酶 Mix\Bst 酶】冰袋运输，4℃ 保存，有效期 6 个月。

注意事项

1. 使用本试剂前请仔细阅读说明书。
2. 整个实验，应规范操作，包括反应体系的配制、样本处理及加样。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用方法

1. 待检样本准备

核酸提取后样本：直接作为模板，加入反应体系中。

煮沸法：临床采集的拭子样本直接放入水中，置于 95℃ 水浴锅或金属浴中进行 5 min 的热裂解，释放核酸，混匀后即可作为模板加入反应体系中。

【注】：1) 处理样本的试剂不能使用强酸或强碱的核酸释放剂，若必须使用，则样本处理完后，需将样本的 pH 调节至 8.0。

2) 加入的样本中，避免使用 Tris-HCl 等高浓度的缓冲体系，避免 pH 指示剂不能发生变色，影响实验结果判读。

2. 反应体系

将 A 组分从 -20℃ 取出，溶解后颠倒混匀，瞬时离心确保所有液体落到管底。根据待检测样品量，配制如下体系（通常实验需要设置阴性对照和阳性对照）：

组分	单次反应体积 (μL)	终浓度
2.5×pH Sensitive Reation Buffer	10	1×
Bst 酶	0.5	0.32 U/μL
RT 酶 Mix	0.3	-
10×Primers ²	2.5	1×
模板 ³	10 ng-1 μg	-
加 ddH ₂ O 至	25	-

【注】：

- 1) 阴性对照推荐设置空白（不加模板）对照以及 NTC（一般为水）对照。
- 2) 10×Primers: 16 μM FIP/BIP, 2 μM F3/B3, 4 μM Loop F/B each.
- 3) 模板加入量在 1-8 μL 内调整；推荐模板 RNA 溶解于 DEPC 水中。

3. 加样

1) 如果反应是在水浴锅中进行，则每管加入 20 μL 矿物油（自备），以防止液体蒸发导致结果的误差。如果反应是在 PCR 仪中进行，不需要加矿物油（请开启热盖）。

2) 为避免污染，建议用户在超净台中配制组分，在其他房间的通风橱中加入模板以免出现假阳性结果。

3) 由于本试剂使用的是 pH 指示剂法，该试剂中的缓冲液能力较弱，试剂不可长期接触空气，否则会吸附空气中的二氧化碳致使试剂变酸，导致试剂颜色变浅，影响实验结果判读。

4. 反应条件

温度	时间	作用
25-37°C	2-5 min	降解含 U 模板
60-65°C	30 min	恒温扩增
85°C	5 min	失活

【注】：

1) 本试剂盒所用酶对温度非常敏感，强烈建议使用 PCR 仪操作；如用水浴锅，应先加热使其达到规定温度后再反应。温差超过 2°C，将导致扩增效率降低，使阳性反应无法在说明书规定的时间内洋红色变成橙黄色。

2) 反应温度需要根据引物的 T_m 值进行调整。

3) 反应时间依据模板浓度而定，低浓度模板可能需要 60 min 时间才能有比较明显的反应。

5. 结果判断

反应 30 min 后，立刻取出反应管，待降温至室温后，置于光线良好的环境中观察（建议以白纸作为背景）。如反应液为洋红色，则为阴性结果；如反应液为橙黄色则为阳性结果。

【注】：反应的时间必须准确计时，超过说明书规定的反应时间可能会出现假阳性。反应管不可开盖，否则会污染，影响后续实验。