

LFT RT Isothermal Amplification Kit (Lyophilized)

REF: EG23108S

储运条件

2~8℃保存, 常温运输, 严格防潮, 不可剧烈振荡。

产品组成

组分	规格
Lyophilized LFT RT Iso-amplification Mix (25 µl/rxn)	48 rxns
Mg(OAc) ₂ (280 mM)	200 µl

产品简介

本品是通过液氮点液冻干技术制备的即用型逆转录 - 侧向流试纸条法恒温扩增试剂盒, 含有除引物、模板和探针外的所有组分。用户仅需加入 RNA 模板、引物、NFO 探针、Mg²⁺ 和水, 即可在 37~42℃恒温下快速完成 RNA 逆转录与 cDNA 扩增, 并使用通用型侧向流试纸条检测结果。

质量控制

核酸内切酶活性

将 1 颗 Lyophilized LFT RT Iso-amplification Mix 溶于 25 µl ddH₂O, 再与 200 ng 超螺旋质粒 DNA 在 37℃ 下共同温育 4 h, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 少于 10% 的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

RNase 活性

将 1 颗 Lyophilized LFT RT Iso-amplification Mix 溶于 25 µl ddH₂O, 再与 500 ng 总 RNA 在 37℃ 下温育 1 h, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 超过 90% 的 RNA 仍保持完整。

使用方法

1. 按下表配制反应体系：

试剂	使用量	终浓度
Lyophilized LFT RT Iso-amplification Mix (25 µl/rxn)	1 颗	
RNA 模板	5 µl	
正向引物 (10 µM) ^a	1 µl	0.4 µM
反向引物 (10 µM) ^a	1 µl	0.4 µM
NFO 荧光探针	1 µl	
ddH ₂ O	To 23.7 µl	

a. 反向引物的 5' 端用生物素标记，引物长度建议为 30~35 nt，内部无二级结构和连续单碱基重复序列，引物 Tm 不作考虑。扩增目标片段长度建议为 200~500 bp。

b. 探针设计参考 <https://doi.org/10.1016/bs.mim.2021.06.001>。实验前应确认探针 5' 端标记物和反向引物 5' 端标记物是否与所用试纸条匹配。

- 待微球完全溶解后，在反应管盖上加 1.3 µl Mg(OAc)₂ (280 mM)。小心盖紧管盖，上下颠倒 5 次，瞬时离心收集至管底。
- 迅速将反应管放入预热好的扩增设备中，在 37~42°C（建议 40°C）下恒温反应 20~30 min。
- 反应结束后，将产物用 150 µl ddH₂O 稀释，插入侧向流试纸条进行检测。

注意事项

- 扩增产物气溶胶易造成假阳性，为避免交叉污染，建议有条件的用户在基因扩增实验室内操作，加样与扩增在不同区域进行。
- 实验时应设置不加模板的空白对照（建议使用开盖无菌水），以确认是否有待扩增核酸的污染。