

LFT Isothermal Amplification Kit (Lyophilized)

REF: EG23107S

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 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 DNA 模板、引物、NFO 探针、Mg²⁺ 和水, 即可在 37~42℃恒温下快速完成 DNA 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 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 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 Iso-amplification Mix (25 µl/rxn)	1 颗	
DNA 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

- 扩增产物的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。