

CAT#:18-81920
低温运输, -20℃保存

BINGENE

新型冠状病毒 N 基因荧光染料法 RT-LAMP 试剂盒
SARS-CoV-2 N Gene Fluorescent RT-LAMP Kit

使用手册 V1.0

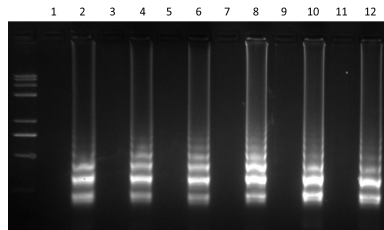
江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址: www.bingene.com; 电话: 400-6005850; 电邮: order@bingene.com

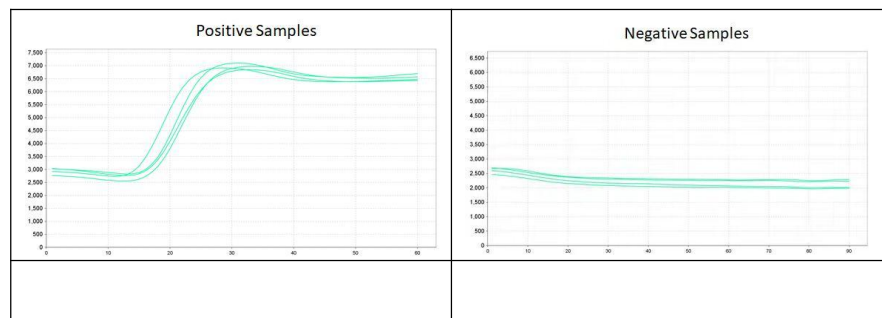
产品及特点	新型冠状病毒（SARS-Cov-2）是单股正链 RNA 病毒，发现于 2019 年。人感染了冠状病毒后常见体征有呼吸道症状、发热、咳嗽、气促和呼吸困难等。在较严重病例中，感染可导致肺炎、严重急性呼吸综合征、肾衰竭，甚至死亡。对于新型冠状病毒所致疾病没有特异治疗方法，因此新型冠状病毒的快速准确鉴定有重要意义。新型冠状病毒 N 基因编码的 N 蛋白是病毒粒子的核心成分，它与病毒基因组 RNA 结合，将 RNA 包装成核糖核蛋白（RNP）复合体。除了组装外，N 蛋白还在病毒 mRNA 转录和复制中发挥重要作用，并参与免疫调节。N 基因相对保守，故是早期快速诊断和疫苗研发的关键靶标。为此本公司根据独有的荧光染料法 RT-LAMP 技术，开发了简单快捷的新型冠状病毒 RT-LAMP 检测试剂盒，它具有下列特点： 1. 即开即用，用户只需要提供病毒 RNA 样品。 2. 含荧光染料，可用荧光 PCR 仪进行实时荧光检测。 3. 检测灵敏性一般比 RT-PCR 高 10 倍以上，分析灵敏度可以达到 100 拷贝/反应左右。 4. 特异性高，根据新型冠状病毒 RNA 保守序列设计 4 条特异引物，不会跟其他生物的 RNA 发生交叉反应。 5. 一般 30 分钟内出结果，比 RT-PCR 快。 6. 提供无传染性的阳性对照，便于分析实验结果。 7. 本产品只能用于定性分析，不推荐用于定量分析。 8. 上样量大，对 20 μL 的反应体系，最大样品加样量高达 13μL。 9. 内含的 dUTP-UNG 可防交叉污染。 10. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的荧光染料法 RT-LAMP 扩增。 11. 只可用于科研。			
规格及成分	本产品采用五孔盒包装			
	成份	编号	规格	包装材料
	RT-LAMP MasterMix (荧光染料法，待加酶)	211210a	200μL	0.5 mL 本色盖
	逆转录酶-扩增酶混合液	211208b	100μL	0.5 mL 红盖管
	20×新型冠状病毒 RT-LAMP 引物混合液干粉	yw16-81920-3	50 次	0.5 mL 白盖管
	新型冠状病毒 RT-LAMP 阳性对照（1×10E4 拷贝/μL）	pc81920	250μL	0.5 mL 黄盖管
	超纯水	210806	1 mL	1.5 mL 蓝盖管
	使用手册	18-81920sc	1 份	无

	注意：引物干粉在使用前需要短暂离心，然后在离心管中加入 55uL 的超纯水充分混匀和再使用，未用完的需要-20℃保存。																								
运输及保存	低温运输，-20℃保存，保存期限为一年。																								
自备试剂	待测样品。																								
使用方法	一、样品 RNA 的制备 1. 用自选方法纯化样品 RNA，本试剂盒跟市场上大多数 RNA 提取试剂盒兼容，包括本公司的免提取的核酸释放剂。 2. 如果有 N 个样品,则需要做 N+2 个样品制备,包括一个样品制备阳性对照(PC) 和一个样品制备阴性对照（NC）。PC 用 10μL 本试剂盒提供的阳性对照（1 × 10E4 拷贝/μL）加一定量的水充当，总体积必须核酸纯化试剂盒所要求的起始样品体积一样，NC 用水替代。 二、RT-LAMP 反应（20μL 体系） 3. 注意：第一次使用一个新的试剂盒时，必须先将 100uL 逆转录酶-扩增酶混合液全部加入到 RT-LAMP MasterMix（荧光染料法，待加酶）中，盖上盖子后轻柔颠倒 1 分钟混匀，然后再取用。 4. 反应设置：如果有 N+2 个 RNA 纯化样品，则最好设置 N+4 个 RT-LAMP 扩增，增加 RT-LAMP 阴性对照和 RT-LAMP 阳性对照各 1 个。在 N+4 个 PCR 管中加入下列成分： <table><tr><th>成分</th><th>N+2 个样品管</th><th>RT-LAMP 阴性对照</th><th>RT-LAMP 阳性对照</th></tr><tr><td>RT-LAMP MasterMix（荧光染料法，已加酶）</td><td>各 6 μL</td><td>6 μL</td><td>6 μL</td></tr><tr><td>20×新型冠状病毒 RT-LAMP 引物混合液</td><td>各 1 μL</td><td>1 μL</td><td>1 μL</td></tr><tr><td>N+2 个样品 RNA</td><td>各 13 μL</td><td>-</td><td>-</td></tr><tr><td>超纯水</td><td>-</td><td>13 μL</td><td>-</td></tr><tr><td>新型冠状病毒 RT-LAMP 阳性对照（1 × 10E4 拷贝/μL）</td><td>-</td><td>-</td><td>13 μL</td></tr></table> 5. 本产品最好使用荧光 PCR 仪器进行扩增。设置 60 次循环，每次 65℃保温 1 分钟，采集 SYBR 通道的荧光信号。 三、结果分析 6. 电泳分析：由于取样时非常容易产生气溶胶污染，污染实验环境并且非常难清除污染，所以强烈建议不要采取此方法分析实验结果。即使使用，也要在不同的房间，使用不同的移液枪操作。具体做法是取 10μL RT-LAMP 扩增产物跟	成分	N+2 个样品管	RT-LAMP 阴性对照	RT-LAMP 阳性对照	RT-LAMP MasterMix（荧光染料法，已加酶）	各 6 μL	6 μL	6 μL	20×新型冠状病毒 RT-LAMP 引物混合液	各 1 μL	1 μL	1 μL	N+2 个样品 RNA	各 13 μL	-	-	超纯水	-	13 μL	-	新型冠状病毒 RT-LAMP 阳性对照（1 × 10E4 拷贝/μL）	-	-	13 μL
成分	N+2 个样品管	RT-LAMP 阴性对照	RT-LAMP 阳性对照																						
RT-LAMP MasterMix（荧光染料法，已加酶）	各 6 μL	6 μL	6 μL																						
20×新型冠状病毒 RT-LAMP 引物混合液	各 1 μL	1 μL	1 μL																						
N+2 个样品 RNA	各 13 μL	-	-																						
超纯水	-	13 μL	-																						
新型冠状病毒 RT-LAMP 阳性对照（1 × 10E4 拷贝/μL）	-	-	13 μL																						

自备上样液混合后进行 2%琼脂糖凝胶电泳。RT-LAMP 阳性对照必须有正常 RT-LAMP 条带（200bp 左右的梯形扩增产物），RT-LAMP 阴性结果必须无条带，否则实验结果无效。如果 RT-LAMP 阳性对照和阴性对照结果正常，再分析待测样品。典型的电泳结果见下表，奇数样为阴性结果，偶数样为阳性结果：



7. 荧光分析（仅限于用 qPCR 仪进行反应的场景）：样品制备阳性对照和 RT-LAMP 阳性对照的反应液将有标准的 S 扩增曲线，样品制备阴性对照和 RT-LAMP 阴性对照的反应液将没呈平线，没有 S 曲线，否则提取实验或扩增实验无效。如果阳性和阴性对照结果正常，则实验有效，可以分析样品的情况。样品管的荧光曲线为 S 型，则说明样品为阳性，如果为平线则说明待测样品为阴性。典型的荧光检测结果见下图。左边为阳性，右边为阴性。



关联产品

新型冠状病毒荧光定量 RT-PCR 试剂盒