

CAT#:220112-50
低温运输, -20℃保存

BINGENE

新冠病毒免提取可视化 RT-LAMP 试剂盒 (两步法)
Isolation-free Colorimetric SARS-CoV-2
RT-LAMP Kit (Two-Step)

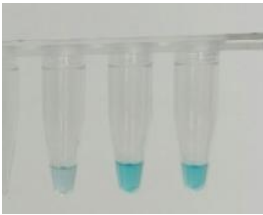
使用手册 V1.0

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	新冠病毒即 SARS-CoV-2（2019 新型冠状病毒）是 2019 年发现的一种冠状病毒，它感染人后产生呼吸道症状、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。 国家指定的新冠病毒核酸检测方法是荧光定量 RT-PCR 法，其最大缺点是需要贵重的仪器，很难下沉到处在抗新冠病毒前线的基层单位，故容易导致样品积压，耽误收治患者。同时其灵敏度也不是最高，容易漏检，产生假阴性。为克服这些缺点，本公司开发了基于恒温扩增的产品，它具有下列特点： 1. 简单快捷，不需要任何贵重的仪器设备，只需要恒温水浴锅（包括金属浴）即可。 2. 含可见光染料，故肉眼可判断检测结果，不需要任何仪器设备。 3. 灵敏性可达 1000 拷贝/反应左右，比免疫法灵敏上万倍。 4. 免核酸提取，样品采样拭子的保存液可以直接作为扩增模板。 5. 使用口腔拭子样品，不需要取血，采样更加容易。 6. 60 分钟出结果，RT 和 LAMP 一步完成。 7. 同时扩增多个靶位点，避免突变造成漏检。 8. 提供阳性对照和影响对照，便于在实验出现问题时分析原因。 9. 本产品只可用于科研。																														
规格及成分	本试剂盒第一部分：免提取病毒保存液，低温运输，4℃保存 <table><tr><th>成 份</th><th>编号</th><th>百孔盒包装</th></tr><tr><td>病毒核酸释放剂（脂包膜病毒专用）</td><td>201001</td><td>0.5mL（紫盖） × 50</td></tr></table> 本试剂盒第二部分：可视化 RT-LAMP 试剂盒，低温运输，-20℃保存 <table><tr><th>成 份</th><th>编号</th><th>十孔盒包装</th></tr><tr><td>RT-LAMP MasterMix（含可视化染料，待加酶）</td><td>211209a</td><td>200 μL（白盖）</td></tr><tr><td>逆转录酶-扩增酶混合液</td><td>211208b</td><td>100 μL（红盖）</td></tr><tr><td>5×新冠病毒 RT-LAMP 引物混合液</td><td>16-81920yw</td><td>200 μL（绿盖）</td></tr><tr><td>新冠病毒 RT-LAMP 阳性对照</td><td>16-81920pc</td><td>500 μL（黄盖）</td></tr><tr><td>新冠病毒 RT-LAMP 阴性对照</td><td>16-81920nc</td><td>500 μL（蓝盖）</td></tr><tr><td>石蜡油，PCR 级</td><td>220101</td><td>250 μL（本色盖）</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>220212sc</td><td>1 份</td></tr></table>	成 份	编号	百孔盒包装	病毒核酸释放剂（脂包膜病毒专用）	201001	0.5mL（紫盖） × 50	成 份	编号	十孔盒包装	RT-LAMP MasterMix（含可视化染料，待加酶）	211209a	200 μL（白盖）	逆转录酶-扩增酶混合液	211208b	100 μL（红盖）	5×新冠病毒 RT-LAMP 引物混合液	16-81920yw	200 μL（绿盖）	新冠病毒 RT-LAMP 阳性对照	16-81920pc	500 μL（黄盖）	新冠病毒 RT-LAMP 阴性对照	16-81920nc	500 μL（蓝盖）	石蜡油，PCR 级	220101	250 μL（本色盖）	使用手册	220212sc	1 份
成 份	编号	百孔盒包装																													
病毒核酸释放剂（脂包膜病毒专用）	201001	0.5mL（紫盖） × 50																													
成 份	编号	十孔盒包装																													
RT-LAMP MasterMix（含可视化染料，待加酶）	211209a	200 μL（白盖）																													
逆转录酶-扩增酶混合液	211208b	100 μL（红盖）																													
5×新冠病毒 RT-LAMP 引物混合液	16-81920yw	200 μL（绿盖）																													
新冠病毒 RT-LAMP 阳性对照	16-81920pc	500 μL（黄盖）																													
新冠病毒 RT-LAMP 阴性对照	16-81920nc	500 μL（蓝盖）																													
石蜡油，PCR 级	220101	250 μL（本色盖）																													
使用手册	220212sc	1 份																													
运输及保存	低温运输，-20℃保存，保存期限为一年。新冠病毒 RT-LAMP 阳性对照最好单独放置，不要污染其他试剂。																														

自备试剂	待测样品。																												
使用方法	准备工作：如果使用水浴锅或金属浴，需要在实验启动前打开并调到 65℃。如果用金属浴，还必须在孔中加水以填充金属孔和反应管间的空隙以便增加传热性。 一、样品的采集 1. 将拭子浸入到 0.5 mL 免提取病毒保存液中，折断拭子，盖上盖子，如此保存的病毒核酸样品可以直接使用。如果不需要立即使用，可以在 4℃放置一天，-20℃放置一月，-80℃长期放置。 2. 使用时先化冻。如果直接使用则免去此步。 二、RT-LAMP（20μL 体系） 3. 预先将水浴或金属浴温度调到 65℃。冰上融化 RT-LAMP MasterMix（含可视化染料，待加酶），轻柔颠倒混匀，稍离心。第一次使用时，请将 100uL 逆转录酶-扩增酶混合液全部加入到 RT-LAMP MasterMix 中并轻柔颠倒混匀，然后再使用。如果有 N 个样品，则按下表标记 N+2 个反应管并加入以下组份： <table><tr><th>成分</th><th>N 个样品管</th><th>扩增阴性对照管</th><th>扩增阳性对照管</th></tr><tr><td>RT-LAMP MasterMix（已加酶）</td><td>各 6 μL</td><td>6 μL</td><td>6 μL</td></tr><tr><td>5×新冠病毒 RT-LAMP 引物混合液</td><td>各 4 μL</td><td>4 μL</td><td>4 μL</td></tr><tr><td>N+2 个样品 RNA</td><td>各 10 μL</td><td>-</td><td>-</td></tr><tr><td>新冠病毒 RT-LAMP 阴性对照</td><td></td><td>10 μL</td><td></td></tr><tr><td>新冠病毒 RT-LAMP 阳性对照</td><td>-</td><td>-</td><td>10 μL</td></tr><tr><td>石蜡油，PCR 级（注）</td><td>50 μL</td><td>50 μL</td><td>50 μL</td></tr></table> 注：如果用金属浴或水浴保温，由于没有热盖，所以必须覆盖石蜡油，否则保温期间反应体系的水分会蒸发凝结到管盖区域，严重影响反应效率。如果是用 PCR 仪保温，则可以不加石蜡油，但必须开启热盖功能。 4. 混匀，立即放 65℃保温 60 分钟。 5. 扩增结束后肉眼观察结果判断阴性和阳性。典型的结果见下图：左边管为阴性，右边两个管为阳性。	成分	N 个样品管	扩增阴性对照管	扩增阳性对照管	RT-LAMP MasterMix（已加酶）	各 6 μL	6 μL	6 μL	5×新冠病毒 RT-LAMP 引物混合液	各 4 μL	4 μL	4 μL	N+2 个样品 RNA	各 10 μL	-	-	新冠病毒 RT-LAMP 阴性对照		10 μL		新冠病毒 RT-LAMP 阳性对照	-	-	10 μL	石蜡油，PCR 级（注）	50 μL	50 μL	50 μL
成分	N 个样品管	扩增阴性对照管	扩增阳性对照管																										
RT-LAMP MasterMix（已加酶）	各 6 μL	6 μL	6 μL																										
5×新冠病毒 RT-LAMP 引物混合液	各 4 μL	4 μL	4 μL																										
N+2 个样品 RNA	各 10 μL	-	-																										
新冠病毒 RT-LAMP 阴性对照		10 μL																											
新冠病毒 RT-LAMP 阳性对照	-	-	10 μL																										
石蜡油，PCR 级（注）	50 μL	50 μL	50 μL																										



6. 结果分析：如果本试剂盒提供的阳性对照呈现阳性结果而阴性对照为阴性结果，则实验有效，可以继续分析样品的结果。如果阳性对照呈现阴性，则操作有问题或者试剂盒有问题，实验无效，不需要分析样品的结果。请跟厂家联系。如果阴性对照呈现阳性结果，则说明LAMP样品或试剂有过去的扩增产物的污染，则实验无效，不需要分析样品的结果。重新实验时，需要注意操作的规范性。如果还不能解决问题，需要跟厂家联系重新设计引物以扩增新的靶片段。
7. 也可以电泳检测实验结果（强烈不推荐此法，因为电泳时产生的气溶胶，非常容易污染环境，使得今后用同一引物扩增时极易产生假阳性）：取 5-10uL 扩增产物和自备的上样液混合，上样，进行 2-3%的琼脂糖凝胶电泳，有 LAMP 扩增的样品将可见 LAMP 特征性电泳图谱。

关联产品 新型 PCR 和 LAMP 荧光染料