产品概述

DNA 快速恒温扩增试剂盒(MEIA Basic)是一种基于多酶快速扩增技术 Multi-Enzyme Isothermal Amplification (MEIA)的恒温扩增试剂，可对粗样品或提取样品（如病毒）中的靶标 DNA 进行定性检测，具有检测速度快和灵敏度高等特点。

规格

25 μL 体系

试剂组成

1. 冻干粉
2. 2.5×Rehydration Buffer
3. 25×$Mg(OAc)_2$
4. P-Primer Mix
5. P-Control

保存条件

-20°C长期保存，使用前应混匀，避免反复冻融。

反应体系配制

1. 各试剂组份单独充分混匀，按以下表配制每份反应液，并分装至反应管。

试剂	25 μL 体系	终浓度
冻干粉	1 份	——
2.5×Rehydration Buffer	10 μL	1×
Primer F (20μM) *	0.5 μL	0.4 μM
Primer R (20μM) *	0.5 μL	0.4 μM
Template	——	——
ddH_2O	To 24 μL	——

*可根据测试效果在 0.1~0.4 μM 范围内调整引物浓度，建议将引物配制成混合溶液后再加入反应体系。

2. 充分混合后，将 **1 μL 的 25×$Mg(OAc)_2$** 加入到反应管盖上，短暂离心，并充分混合（如：手持八连管快速用力上下颠倒混匀 15 次），再次短暂离心。
3. 反应管放入恒温设备，于 39°C下反应 30 min。
4. 产物纯化：反应结束后，加入等体积 Tris 饱和酚-氯仿-异戊醇混合液（25:24:1）（需自备），混匀震荡离心，上清与 Loading Buffer（需自备）混匀后，即可用于电泳（操作需在通风橱内进行，可根据实验需求使用蛋白酶 K 等方式纯化产物）。

反应条件

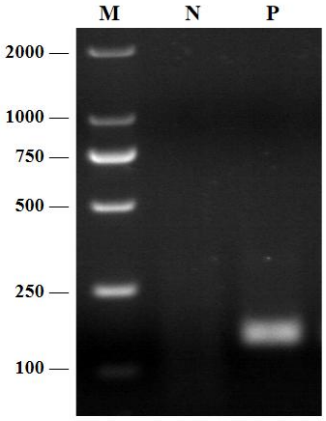
39°C下反应 30 min（可根据实验需要延长反应时间）。

阳性质控品使用

阳性质控品包括引物预混液（P-Primer Mix）与阳性模板标准品（P-Control，浓度为 0.5×10^5 copies/μL），根据实验需要设置阳性对照。

试剂	25 μL 体系	终浓度
冻干粉	1 份	——
2.5×Rehydration Buffer	10 μL	1×
P-Primer Mix	1 μL	——
Template	1 μL	2×10^3 copies/μL
ddH_2O	To 24 μL	——

充分混合后，将 1 μL 的 25×$Mg(OAc)_2$ 加入到反应盖上，短暂离心，并充分混合。上机、纯化产物及电泳操作参见“反应体系配制”中步骤进行。



M：Marker　N：阴性对照　P：阳性对照

阳性质控品电泳结果如上图所示（琼脂糖凝胶浓度 2%）。

注意事项

1. 本试剂盒采用 MEIA 技术，需针对目的序列优先选择 120-350 bp 区域设计两条特异性的 MEIA 引物（或使用 RPA 引物）。
2. 体系配制涉及到的混匀步骤非常重要，请务必注意充分混匀。
3. 如果样品模板浓度低，为提高检测灵敏度，可在反应 5 min 后，取出上下混匀，短暂离心后继续放回仪器反应。
4. 加入 25×$Mg(OAc)_2$ 后，混匀、离心到上机整个过程都应该尽可能控制在的 1~3 min 内，时间过长会影响扩增效果。
5. 本试剂盒扩增产物和检测过程中产生的废弃物应妥善处理，避免产生气溶胶，造成后续扩增的假阳性。
6. 反应结束后，如果暂不进行产物纯化操作，可通过 95°C加热 5 min 或置于 4°C终止反应。
7. 用于 CRISPR 技术时，扩增产物可不纯化，直接取 1 μL 产物加入 CRISPR 体系反应。