

Taq[®] CRISPR双酶切核酸检测试纸条(彩虹型)

使用前请仔细阅读说明书

货号: LFS12

储存条件: 存放于避光干燥处, 储存温度 4~30℃。

包装规格:

产品货号	包装规格
LFS12-01	50T
LFS12-02	50T×2 管
LFS12-03	50T×4 管



图 1. 一次性核酸检测试纸条结构示意图

工作原理:

本产品采用层析式双抗体夹心法检测 Cas12 和 Cas13 酶切割产物。当靶基因经过 LAMP, RAA/RPA, PCR 扩增后, 使用 Cas12 和 Cas13 酶同时对扩增产物进行切割, Cas12 酶对应的 DNA 信号探针 A (Cas12 切割), 与 Cas13 酶对应的 RNA 信号探针 B (Cas13 切割) 进行如下修饰, 即可使用本产品进行切割产物的检测:

- 1) 探针 A 一端修饰有生物素 (Biotin), 另一端修饰有异硫氰酸荧光素 (FITC) 或 6-羧基荧光素 (6-FAM), 探针 B 一端修饰有生物素 (Biotin), 另一端修饰有地高辛 (Dig);
- 2) 或, 探针 A 一端修饰有生物素 (Biotin), 另一端修饰有地高辛 (Dig), 探针 B 一端修饰有生物素 (Biotin), 另一端修饰有异硫氰酸荧光素 (FITC) 或 6-羧基荧光素 (6-FAM)。

预期用途:

Cas12 和 Cas13 双酶切后的产物检测。

操作步骤:

- 1、根据检测样品数量取出相应数量的试纸条, 并在吸收垫 (图 1) 上做好标记。每根试纸条只能用于单次, DNA 探针和 RNA 探针同时切割的产物检测。酶切产物体积为 50~100μL 时, 可直接在 200μL PCR 反应管中检测核酸产物, 产物体积不足 50μL 时, 需在 PCR 管内加超纯水补足体积至 50μL, 吸打混匀后, 才能进行检测。
- 2、LAMP, RAA/RPA, PCR 扩增产物加入 CRISPR 体系酶切反应结束后, 打开 PCR 反应管, 将试纸条结合垫端 (箭头端) 插入 PCR 反应管 (图 1), 液面不得超过结合垫最上端, 待判读区全部浸润 (约需 1~2min, 外界环境温度较低时, 如冬季, 会降低吸水速度, 判读区浸润时间将会延长), 待检测线 (T 线) 显色后, 可以将试纸条拿出。根据试纸条显色情况直接读取检测结果。
- 3、质控线 (C 线) 显色后 10min 内观察结果, 10min 后判读无效。
- 4、记录检测结果, 将试纸条密封丢弃在安全处。

结果判读:

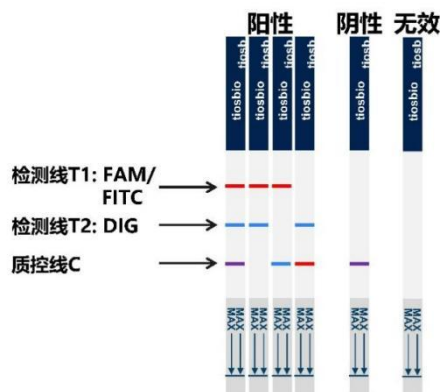


图 2. CRISPR 双酶切核酸检测试纸条结果判读示意

颜色说明：本产品为变色双校正显色试纸条，其中 C 线为紫色，T1 为红色，T2 为蓝色。在探针 A 和探针 B 等摩尔浓度混合，且终浓度 $\leq 500\text{nM}$ 时，带有 FAM 标记的探针酶切后，T1 显色为红色，C 线逐渐变为蓝色；带有 Dig 标记的探针酶切后，T2 显色为蓝色，C 线逐渐变为红色，从而达到互相校正的目的。

1. 阳性 (+):

试纸条质控线 (C 线) 和 2 条检测线 (T 线) 均出现条带，其中 T1 为红色，T2 为蓝色，C 线为紫色；试纸条质控线 (C 线) 不显色，T1 为红色，T2 为蓝色时，说明 Cas12 和 Cas13 可进行有效酶切，并激活报告基团显色，相应的靶基因均可判定为阳性。

试纸条质控线 (C 线) 和其中 1 条检测线 (T 线) 出现条带，其中：T1 为红色，C 线为蓝色时，说明 FAM 标记信号分子的相应靶基因可判定为阳性；T2 为蓝色，C 线为红色时，说明 Dig 标记分子的相应的靶基因可判定为阳性。

2. 阴性 (-):

试纸条质控线 (C 线) 为紫色色条带，检测线 (T 线) 不显色，判定为阴性结果。该结果表明 Cas12 或 Cas13 均不能切割报告分子，未能激活报告基团显色。

3. 无效:

试纸条质控线 (C 线) 和 2 条检测线 (T 线) 均未出现条带，提示所用的试纸条或扩增试剂可能已经损坏、失效或操作有误。此时，应仔细阅读说明书，重新扩增和检测。如果问题仍然存在，应立即停止使用同一批号的产品，并与当地供应商联系。

注意事项及安全提示:

- 1、本产品应结合探针使用，如探针合成纯度不足，探针含游离的 Biotin 或者游离的 FITC 时，会导致以超纯水为阴性对照的切割产物 T 线呈现红色，即阴性对照呈现假阳性结果。
- 2、本产品可用于探针合成质量的检测。调整空白阴性对照中探针的使用浓度至 400 nM ，并进行切割反应。当试纸条结合垫端浸入 Cas12/Cas13 切割产物后的 $5\sim 7\text{ min}$ 内，试纸条 T 线显红色，即说明探针纯度难以满足实验要求，会因探针纯度不足导致假阳性结果。建议更换探针合成供应商，并重新合成探针。
- 3、本产品仅供科研使用。使用前请仔细阅读说明书，严格按照说明书操作。违反或者未按说明书进行操作可能导致错误结果。
- 4、产品应依照说明书要求，储存于合适的环境和温度下，并在有效期内使用。储存不当或产品过期可能导致错误结果。打开包装后请尽快使用试纸条，以免因试纸条受潮影响试验结果。检测环境光线不足，操作者色弱等因素均可能导致错误结果。
- 5、使用完毕后，应尽快将纸条装进密封袋，妥善处理。本产品为一次性使用产品，请勿重复使用。

基础信息:

生产企业: 杭州大鱼探柯生物科技有限公司

地 址: 浙江省杭州市西湖区三墩镇灯彩街 1009 号云谷中心 B1 号楼 603-1 室

版 本 号: V1-202601