



Taq[®] RPA PRO 核酸扩增试剂盒(兼用型) 14mM 醋酸镁冻干

使用前请仔细阅读说明书

货号：RPA12

储存条件：本产品储存于2-8℃、干燥、避光条件下，有效期为12个月；未用完试剂，请盖紧管盖置于常温保存，有效期2个月。

包装规格：

产品货号	包装规格
RPA12-SP	8T
RPA12-01	48T, 3包(8联排×2)
RPA12-02	96T, 6包(8联排×2)
RPA12-03	384T, 24包(8联排×2)

【预期用途】

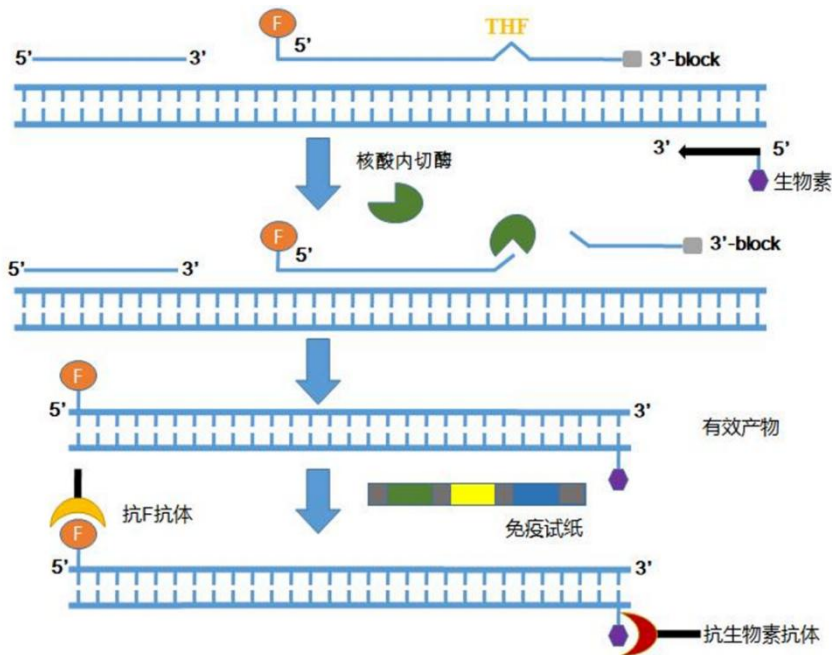
本产品可应用于多重核酸(DNA和/或RNA)的快速扩增，根据需求选择产品及规格。

【产品描述】

- 1、本产品是“Ready to Use”即用型RT-RPA冻干颗粒；含有除引物和探针外所有的反应要素，冻干颗粒中包含成分如下：重组酶，聚合酶，单链结合蛋白，ATP，dUTP，dATP，dCTP，dGTP，缓冲液，poly A，TET和PEG 35000等。
- 2、醋酸镁颗粒：含有14mM醋酸镁；请与RPA颗粒一起溶解。
- 3、扩增产品电泳分析，请务必提取核酸；产品直接电泳，大概率观察不到条带。
- 4、“基础型”适合电泳分析和后续CRISPR检测。
- 5、“荧光型”含有外切酶或 NFO 适用荧光探针或试纸条，不适合后续CRISPR分析。
- 6、兼容型 RAA/RT-RPA可用检测DNA或RNA。
- 7、引物建议用Beacon Designer 软件设计引物和探针；引物长度28-35碱基，探针优选45个碱基。
- 8、试剂盒最低检测下限为10-100copies/测试(依据引物筛选优化程度和检测手段)。

【工作原理】

重组酶介导链置换核酸扩增(Recombinase Polymerase Amplification, RPA)，是一种恒温核酸快速扩增技术。从细菌或真菌中获得的重组酶在常温下可与引物DNA紧密结合，形成重组酶/引物复合物，侵入DNA双链核酸模板，在侵入位点重组酶将双链打开，同时单链结合蛋白结合到被重组酶打开的单链上，维持双链模板处于开链状态。重组酶/引物复合物开始对双链进行扫描，当引物在模板上搜索到与之完全匹配的互补序列时，重组酶/引物复合物解体，DNA聚合酶结合到引物的3'端，开始合成新链。合成的新链又可以作为模板，最终扩增产物以指数级增长，完成靶标基因的扩增。经过荧光标记的探针与扩增产物结合，当探针被核酸内切酶酶切后，与生物素标记的引物共同扩增形成两端有荧光标记及生物素标记的片段，可用电泳法或荧光法进行判断。如下图所示：



本试剂盒具有快速、灵敏度高以及特异性强等优点，反应组分已混合并冷冻干燥成核酸扩增试剂，操作简便，易于保存。

【适用仪器】

恒温金属浴、恒温水浴锅、荧光PCR仪。

【检测步骤】

1、核酸样本处理

1.1 核酸提取：请参考传统DNA/RNA提取方法或其他等效商品化试剂盒提取DNA样本。

1.2 核酸释放：*核酸释放剂，可溶解所有被膜病毒、绝大部分非被膜病毒和细菌(分支杆菌除外)；建议使用>2:1比例与样本混匀，然后溶解RPA颗粒和镁颗粒。

*核酸释放剂：采用BFT-1011/1012 杭州大鱼探柯生物科技有限公司BFTAQ® 核酸释放剂(高效型)，主要成份为0.5%TritonX-100或CA-63, pH=8.0；可直接溶解球使用；可任何比例与样本混溶，释放核酸推荐2:1与未处理样本混合后再溶解RPA球和镁球。

2. 样本检测

2.1 反应体系：单管反应体系（25 μL）：

上游引物 (10 μM)	1.0 μL
下游引物 (10 μM)	1.0 μL
探针 (10 μM)	0.3 μL
核酸样本和水	22.7 μL
RT-RPA 颗粒	1个
Mg ²⁺ 颗粒	1个
总体积	25.0 μL

2.2 操作步骤

2.2.1 根据反应数量，按照反应体系配制含有水、上游引物(10 μM)、下游引物(10 μM)和/或探针的Mix，混合均匀后加入装有核酸扩增试剂的检测单元管中；

2.2.2 向检测单元管中加入经步骤2.2.1处理得到的待测核酸样本；盖上管盖，上下颠倒轻甩充分混匀5-6次，使冻干球完全溶解后，低速离心10sec（注：本步骤“是否充分混匀”将决定实验结果的重复性）。

2.2.3 将检测单元管放入37-40℃恒温金属浴、恒温水浴锅或PCR仪中，孵育20min；荧光法则每隔 30秒，采集一次荧光信号。



【注意事项】

- 1、开始检测前请仔细阅读本说明书全文，并严格按照要求进行操作。
- 2、不同类型样品所提取的核酸含量和纯度有差异，可能导致扩增效率不同。
- 3、当实验室环境、试剂、仪器或配件存在阳性物质（例如质粒、扩增产物等）污染，或样本间存在交叉污染的情况时，会影响检测结果准确性，出现假阳性结果。
- 4、务必保证试剂保存、配制或运输得当，否则可能导致试剂检测性能下降，出现假阴性结果。
- 5、阳性对照为质粒，适用于评价本试剂核酸扩增性能。
- 6、请严格按照基因扩增实验室的管理规范进行操作。实验结束后，检测过程中所产生的废弃物应按照相关规范进行处理。

【结果分析与判定】

可以根据琼脂糖电泳、核酸试纸条或荧光法判定实验结果。

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 楼 603-1 室

版 本 号：V1-202601