



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

使用前请仔细阅读说明书

货号：RPA11

储存条件：本产品储存于2 ~ 8 °C，干燥、避光条件下，有效期为12个月；

未用完试剂需盖紧管盖后避光保存，有效期2个月。

包装规格：

产品货号	包装规格
RPA11-SP	8T
RPA11-01	48T, 3包(8联排×2)
RPA11-02	96T, 6包(8联排×2)
RPA11-03	384T, 24包(8联排×2)

【预期用途】

本产品适用于核酸(DNA 和/或 RNA)靶基因的快速扩增。用户可根据具体实验需求选择相应的产品类型和规格。

【产品描述】

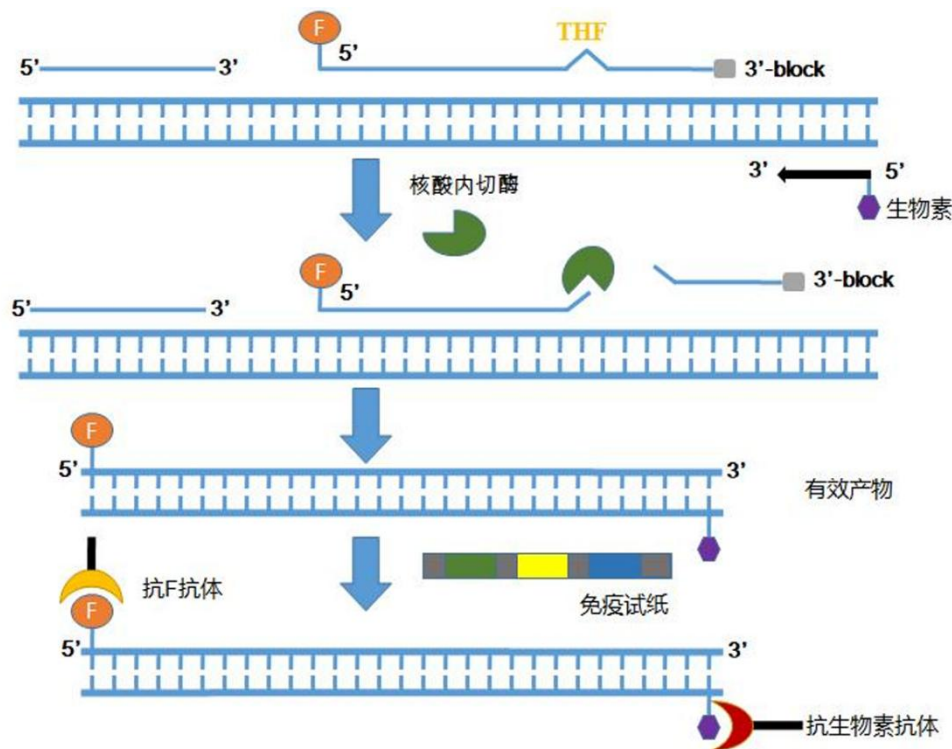
- 产品类型：**本产品为“即用型”(Ready-to-Use) RT-RPA 冻干反应颗粒，已预混除引物与探针外的所有反应组分，便于快速组装和使用。冻干颗粒内含如下成分：重组酶、聚合酶、单链结合蛋白(SSB)、ATP、dUTP、dATP、dCTP、dGTP、反应缓冲液、poly A、TET 及 PEG 35000 等。
- 醋酸镁颗粒：**配套提供醋酸镁颗粒，浓度为 14 mM，请与 RT-RPA 冻干颗粒同时溶解，以激活反应体系。
- 电泳分析注意事项：**若进行扩增产物的凝胶电泳分析，务必先对扩增产物进行核酸纯化。直接上样电泳通常无法观察到清晰条带。
- 产品类型与适用性：**1) 基础型适用于标准电泳分析及 CRISPR-Cas 后续检测流程。2) 荧光型：含有外切酶或 NFO，适用于荧光探针检测或侧向层析试纸条(LFS)，但不推荐用于后续 CRISPR 检测。3) 兼容型：适用于 RAA 或 RT-RPA 扩增，支持 DNA 或 RNA 靶标检测。
- 引物与探针设计建议：**推荐使用 Beacon Designer 软件进行引物与探针设计；引物长度建议为 28 - 35 nt；探针长度建议为约 45 nt。
- 检测灵敏度：**在引物筛选优化良好及合适的检测手段条件下，试剂盒的最低检测限可达 10 - 100 copies/反应。

【工作原理】

重组酶介导链置换核酸扩增(Recombinase Polymerase Amplification, RPA)是一种在恒温条件下(通常为37 - 42 °C)进行的快速扩增技术。该技术无需热变性过程，依赖于来源于细菌或真菌的重组酶与DNA引物形成稳定的重组酶/引物复合物，从而实现对靶标核酸的快速扩增。在扩增反应中，重组酶与引物结合形成复合物后，主动侵入双链DNA模板，局部解链形成开放结构。单链结合蛋白(SSB)随后结合于解链区域，防止DNA链重新复性，并维持其稳定性。重组酶/引

物复合体在模板上进行序列扫描，当定位到与引物完全互补的目标序列时，重组酶解离，引物在靶位点3'端结合，DNA聚合酶启动链式延伸反应。新合成的DNA链作为后续反应的模板，驱动反应体系实现指数式扩增。

为实现可视化检测，体系中可引入带有荧光基团和淬灭基团的特异性探针。探针与扩增产物杂交后被特异性内切酶识别切割，荧光基团与淬灭基团分离，释放可检测信号。若引物设计带有生物素标记，扩增产物两端将分别带有荧光和生物素标记，可结合侧向层析试纸条（LFS）进行免标记仪器可视化检测；也可采用电泳或实时荧光法进行分析。RPA 技术具有快速（<30分钟）、高灵敏度和高特异性的优点，特别适用于便携式现场检测（point-of-care testing, POCT）平台的构建。本产品在此基础上进一步优化，提供预混型冻干反应体系，除引物、探针和扩增模板外，已包含所有扩增反应所需的其他组分。冻干粉便于运输和保存，配制简便，特别适合于野外现场及资源有限条件下的核酸检测需求。



【适用仪器】

本试剂盒适用于恒温金属浴、恒温水浴锅和荧光PCR仪（用于荧光实时检测）等恒温设备。

【检测步骤】

1. 样本预处理与核酸释放：

1.1 核酸提取（可选）：如需获得较高纯度核酸，建议使用常规DNA/RNA提取方法，或选用商业化核酸提取试剂盒进行处理。

1.2 核酸释放（推荐）：为实现快速样本裂解与核酸释放，可使用配套核酸释放剂（BFTAQ® 高效型核酸释放剂，BFT-1011/1012）进行简便处理。该释放剂可溶解所有有包膜病毒、绝大多数无包膜病毒及常见细菌（不包括分支杆菌）。建议将核酸释放剂与样本按2:1（体积比）混合均匀，将混合液直接用于溶解冻干RPA反应颗粒和醋酸镁颗粒，即可进



行扩增反应；样品经核酸释放剂获得的粗裂解液上清液可直接加样至反应管，溶解冻干球，无需额外加热或离心处理。

2. 样本检测

2.1 反应体系：单管反应体系（25 μ L）：

组分	加样量
RT-RPA 颗粒	1 个
Mg ²⁺ 颗粒	1 个
上游引物(10 μ M)	1.0 μ L
下游引物(10 μ M)	1.0 μ L
探针(10 μ M)	0.3 μ L
核酸样本和水	22.7 μ L
总体积	25.0 μ L

2.2 操作步骤

2.2.1 反应体系配制：根据所需反应数量，预先配制引物/探针混合液（Mix），包括上游引物（10 μ M）、下游引物（10 μ M）和无核酸酶水（Nuclease-free water）。如使用荧光/试纸条法：加入荧光探针或侧向层析探针。将上述混合液按一定比例加入至每个检测单元管（已预装冻干核酸扩增试剂）中，轻轻混匀。

2.2.2 样本加样与冻干球溶解：向每个检测单元管中加入高纯度的核酸提取液或粗裂解液上清液，盖紧管盖后上下颠倒轻甩或涡旋混匀 5 ~ 6 次，使冻干颗粒（RPA 球与镁球）充分溶解。

注意：冻干颗粒的充分溶解与混匀对反应重复性至关重要。冻干球充分溶解后，应短暂低速离心（约 5 ~ 10 秒），使液体集中至管底。

2.2.3 扩增反应：将处理好的检测单元管置于恒温金属浴（37 ~ 40 °C）、实时恒温荧光定量分析仪（BFTAQ-16）、荧光 PCR 仪（用于实时荧光采集）等设备中进行反应 20 分钟，如采用荧光检测方式，请设定每 30 秒采集一次荧光信号，用于生成实时扩增曲线。

【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