



Taq[®] RPA PRO 核酸扩增试剂盒(兼用型) 14mM醋酸镁溶液

使用前请仔细阅读说明书

货号：RPA02

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
RPA02-SP	8T
RPA02-01	48T, 3包(8联排×2)
RPA02-02	96T, 6包(8联排×2)
RPA02-03	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。

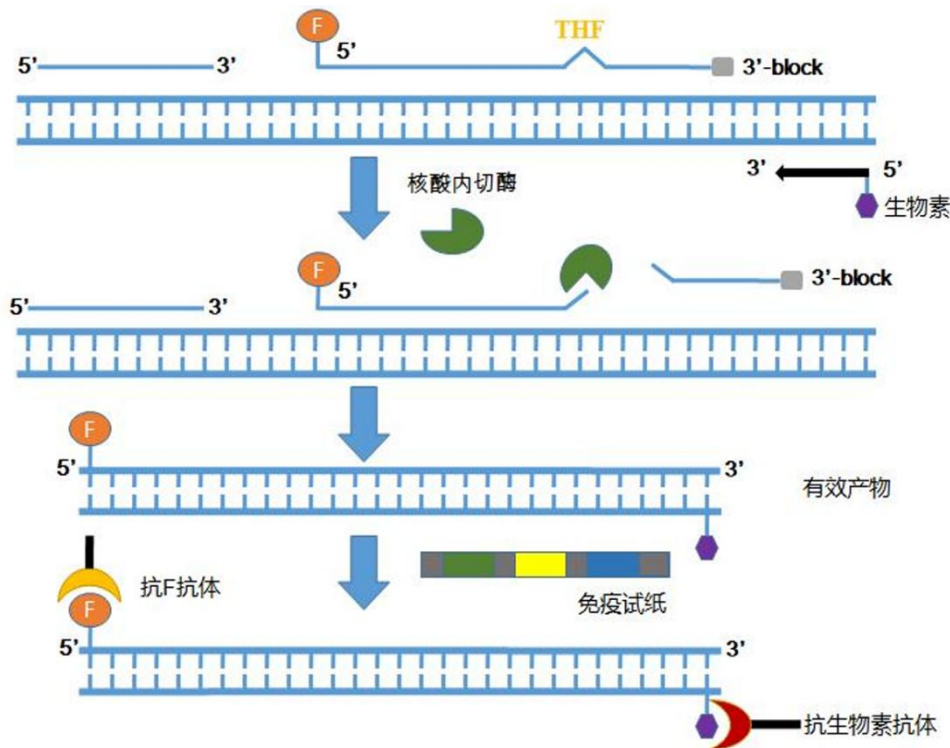
【产品描述】

- 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）。

【技术原理】

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 μ L）：

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
14mM 醋酸镁溶液粒	1.25 μ L
RT-RPA 颗粒	1 个
总体积	25.0 μ L

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 μ M)、下游引物(10 μ M)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 $^{\circ}$ C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 号楼 603-1 室

版 本 号：V1-202601