天净沙系列

CAT#:240746

低温运输，-20℃保存

通用探针法 RPA 试剂盒

Universal Probe-based RPA Kit

使用手册 V0.5

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是基于常温恒温核酸快速扩增技术开发的通用探针法 RPA 试剂盒。原理是利用重组酶、DNA 聚合酶、单链 DNA 结合蛋白和引物的共同作用实现目的片段的指数级扩增，然后在核酸外切酶的作用下，加入针对靶基因序列设计的特异性分子探针，在实验条件下能够扩增并特异识别目标样木的基因片段，同时使用实时荧光检测仪可以实时监控扩增过程。本产品仅能用于科研。

规格及成分

本产品采用五孔盒包装

成分	编号	规格	包装
通用探针法 RPA 反应缓冲液 A	240746a	1.8 mL	2 mL 本色管
通用探针法 RPA 反应缓冲液 B	240746b	150 μL	0.5 mL 本色管
通用探针法 RPA 反应缓冲液 C	240746c	35 μL	0.5 mL 棕色管
通用探针法 RPA 阳性对照溶液	240746d	50 μL	0.5 mL 本色管
通用探针法 RPA 阴性对照溶液	240746e	100 μL	0.5 mL 本色管
通用探针法 RPA 干粉反应管	240746f	16 次×3	0.5 mL 本色管
使用手册	240746sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，避光，避免反复冻融，-20℃保存，保存期限为一年。

自备试剂

样品 DNA，双蒸水，荧光定量 PCR 仪，引物。

使用方法

一、样本要求

1. 样本一般采用机提法和离心柱提取法所提取的血清、血浆、唾液、口腔拭子、鼻腔拭子、肛拭子、动植物组织、细胞的核酸的 DNA 样本。

   注：不同核酸提取方法，不用样品类型所提取的基内组 DNA 含量和纯度会有明品差片导致出现扩增效率不同。

二、样品 DNA 检验

2. 单管反应体系(50 μL)：

成分	剂量
10 μM 引物 F	2 μL
10 μM 引物 R	2 μL
10 μM 探针	0.6 μL
DNA 模板+双蒸水	10 μL
通用探针法 RPA 反应缓冲液 A	32.9 μL
通用探针法 RPA 反应缓冲液 B	2.5 μL

3. 加入 32.9 μL 通用探针法 RPA 反应缓冲液 A、2 μL 10 μM 引物 F、2 μL 10 μM

引物 R、0.6 μL 10 μM 探针于装有干粉的反应单元管中；

4. 再向其中加入 5 μL-10 μL 待测样术 DNA 和双蒸水(根据实际需求调整样本 DNA 和双蒸水的体积，保证二者总体积为 10 μL)；

5. 加入 2.5 μL 的通用探针法 RPA 反应缓冲液 B 于反应单元管盖上，盖上管盖，上下颠倒充分混匀 8-10 次，低速离心 10 秒钟；

6. 将反应单元管放入荧光定量 PCR 仪中，每个循环周期进行一次荧光信号的采集,设定检测程序如下:

过程	温度	时间
预热	39℃	1 min.
扩增（40 循坏）	39℃	30 sec

7. 阴性/阳性照反应体系(50 μL)：

成分	剂量
阳性/阴性对照溶液	2 μL
通用探针法 RPA 反应缓冲液 A	2 μL
通用探针法 RPA 反应缓冲液 B	0.6 μL
通用探针法 RPA 反应缓冲液 C	10 μL
双蒸水	32.9 μL

四、数据处理

8. 参照具体荧光定景 PCR 仪使用说明书进行基线设定和阈值设定。不同荧光定量 PCR 仪，判定标准有所误差，可依据实际情况进行调整，如果阴性对照和阳性对照均正常，则可以进入后续分析。

五、注意事项

9. 严格按照本说明书和基因扩增实验室的管理规范进行试验操作，避免出现实验室环境、试剂、仪器或配件污染，以及样本间交叉污染的情况，否则会容易出现假阳性结果。

10. 每次使用时请取出检测所需数量的反应单元管，开盖后应当天使用，尽避免反复冻融。

11. 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。

12. 在进行反应时请注意避免微量待扩增 DNA 的污染,建议设置空白对照以确认是否有待扩增 DNA 的污染。

关联产品	鲍疱疹样病毒探针法 RPA 试剂盒（不含内参）