天净沙系列

CAT#:240743

常温运输，25-30℃干燥、避光保存

天净沙

通用电泳法 RT-RPA 试剂盒

RT-RPA Kit

使用手册 V0.8

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

本产品是基于重组酶介导链置换核酸扩增（Recombinase Polymerase Amplification，RPA）技术开发的恒温核酸扩增检测试剂，在 39～42℃恒温条件下特异识别并扩增目标样本的核酸片段，可配合电泳法、实时荧光或通用型核酸检测试纸条进行检测判断。本产品具有下列特点：

1. 本产品是“Ready to Use” RT-RPA 冻干颗粒。
2. 含有除引物和探针外所有的反应要素，如重组酶、逆转录酶、dNTP、ATP 和 PEG 35000 等。
3. 试剂盒最低检测下限为 10-100 copies/测试(依据引物筛选优化程度和检测手段）。
4. 适用于电泳法分析条带。
5. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用 logo 热封袋包装

成份	编号	规格	包装
RT-RPA Mix 颗粒	240743	25 μL×48 T/瓶	西林瓶
使用手册	240743sc	1 份	无

运输及保存

常温运输，25-30℃干燥、避光保存，有效期一年；未用完试剂，请盖紧瓶盖置于常温保存，有效期 2 个月。

自备物品

样品 DNA，引物，探针，280 mM 醋酸镁溶液，恒温水浴锅。

使用方法

1. 引物设计要求：建议的引物长度在 28-35 个核苷酸之间，引物序列中应避免回文序列、连续单碱基重复序列和内部二级结构区，建议在进行 RPA 扩增反应之前，先进行引物的筛选试验，以便获得较高的检测灵敏度。
2. 探针设计要求：建议的探针长度在 46-52 个核苷酸之间，探针序列中同样应避免回文序列、内部二级结构和连续的重复碱基，探针内部可以包含碱基核苷酸类似物替换核苷酸以提高杂交稳定性。探针 THF 上游和下游标记发光基团和淬灭基团，探针的 3′末端应包含聚合酶延伸阻断基团，以防止非特异性延伸，在开始实验前，请检查探针 5′端标记的基团与下游引物 5′端标记的基团是否与所用的试纸条或检测平台相匹配。
3. 用自选方法进行核酸提取与释放。
4. 反应体系如下：

单管反应体系	
成分	加入量
上游引物，10 μM	1.0 μL

下游引物，10 μM	1.0 μL
探针，10 μM （根据实验需要决定是否加入）	0.25 μL
RNA 样本和水	21 μL
280 mM 醋酸镁溶液	1.25 μL
RT-RPA 冻干颗粒	1 粒

5. 根据反应数量，按照反应体系配制含有水、10 μM 上游引物、10 μM 下游引物的 Mix，根据实验需要决定是否加入 10 μM 的探针，混合均匀后加入装有 RT-RPA 冻干颗粒的检测单元管中。
6. 向检测单元管中加入待测 RNA 样本。
7. 再向检测单元管盖上加入 1.25 μL 的 280 mM 醋酸镁溶液，盖上管盖，上下颠倒轻甩充分混匀 5-6 次，低速离心 10 sec；（注：本步骤“是否充分混匀”将决定实验结果的重复性）。
8. 反应程序设置为：42℃ 30 秒，共 40 循环。
9. 扩增结束后，扩增产物需再次经历核酸提取或纯化。
10. 琼脂糖凝胶电泳检测 RT-RPA 扩增结果。
11. 若加入探针，则可观察扩增曲线。

关联产品	试纸条型 RT-RAA 核酸扩增试剂（冻干颗粒）