天净沙系列

CAT#:35-32050

低温运输，-20℃保存

天净沙

日本血吸虫探针法 RPA 试剂盒（不含内参）

Schistosoma japonicum Probe RPA Kit

使用手册 V0.53

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

本公司根据独有的探针法 RPA 技术,开发了简单快捷的日本血吸虫 RPA 检测试剂盒,它具有下列特点:

1. 即开即用，用户只需要提供 DNA 样品。
2. 恒温扩增，简单快捷。
3. 提供无传染性的阳性对照，便于分析实验结果。
4. 本产品只能用于定量分析。
5. 本产品足够 50 次 25 μL 体系的探针法 RPA 扩增。
6. 只可用于科研。

规格及成分

本产品采购五孔盒包装

成分	编号	规格	包装
Probe RPA 反应缓冲液	240746a	800 μL	1.5 mL 绿盖管
2×Probe RPA 酶混合液	240746b	50 μL	0.5 mL 红盖管
日本血吸虫 RPA 引物-探针干粉	yp19-32050	50 次	0.5 mL 棕色管
日本血吸虫 RPA 阳性对照 (1E4 拷贝/μL)	pc32050	50 μL	0.5 mL 黄盖管
使用手册	35-32050sc	1 份	无

注意: 引物-探针干粉在使用前需要短暂离心，然后在离心管中加入 165 μL 的超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20℃保存。

运输及保存

低温运输，-20℃保存，保存期限为一年。

自备试剂

待测样品。

使用方法

一、样品 DNA 的制备

1. 用自选方法纯化样品 DNA，一般采用机提法和离心柱提取法。
2. 如果有 N 个样品，则需要做 N+2 个样品制备，包括一个样品制备阳性对照（PC）和一个样品制备阴性对照（NC)。PC 用本试剂盒提供的阳性对照，NC 用水替代。

二、RPA 反应（25 μL 体系）

3. 反应设置: 第一次使用时请把所有 Probe RPA 酶混合液（50 μL，本试剂盒提供）加入到 Probe RPA 反应缓冲液中，轻柔颠倒 20 次充分混匀，然后再取用。如果有 N+2 个 DNA 纯化样品，则最好设置 N+4 个 RPA 扩增，增加 RPA 扩增阳性对照和 RPA 扩增阴性对照各 1 个。在 N+4 个 PCR 管中加入下列成分:

成分	N+2 个样品管	RPA 阴性对照	RPA 阳性对照
Probe RPA 反应缓冲液	各 16 μL	16 μL	16 μL

2× Probe RPA 酶混合液	各 1 μL	1 μL	1 μL
日本血吸虫 RPA 引物-探针混合液	各 3 μL	3 μL	3 μL
N+2 个样品 DNA	各 5 μL	不加	不加
超纯水	不加	5 μL	不加
日本血吸虫 RPA 阳性对照 (1E4 拷贝/μL)	不加	不加	5 μL

4. 盖上盖子后上机，按下面参数进行 RPA：

过程	温度	时间
预热	39℃	1 min.
RPA 反应 (40 个循环)	39℃	30 sec.
	39℃	30 sec（采集 FAM 通道的荧光信号，淬灭基团为 TAMRA）

三、结果分析

1. 如果样本制备阳性对照或 RPA 阳性对照(包括标曲样本)结果为阴性，则整个实验无效，不需要分析数据，需要重新样本制备，重新进行 RPA 扩增或跟厂家联系。如果样本制备阴性对照或 RPA 阴性对照结果为阳性，说明环境污染，则整个实验无效，不需要分析数据，需要跟厂家联系。
2. 如果阴性对照和阳性对照均正常，则实验有效，可以进入后续分析。
3. 本试剂盒用于定性检测，只判断阳性或阴性，对于待测样品，如果 Ct 没有读数，或者大于或等于 35，则为阴性。如果有荧光对数增长，有典型扩增曲线，Ct 值小于 35，则为阳性。

关联产品	日本血吸虫荧光定量 PCR 试剂盒