天净沙系列

CAT#:HP80206

常温运输，2-28℃干燥、避光保存

天净沙

试纸条型 RT-RPA 核酸扩增试剂（冻干颗粒）

Lateral Flow Strip RT-RPA Nucleic Acid Amplification Kit Lyophilized Particles

使用手册 V1.1

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-aid 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. 本产品是即用型 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、RNA 聚合酶、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. 试纸条型试剂：含有外切酶适用于荧光法和试纸条法分析扩增产物。
5. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用小扁盒包装

成份	编号	规格	包装
试纸条型 RT-RPA 核酸扩增试剂（冻干颗粒）	HP80206	48 T	玻璃瓶
使用手册	HP80206sc	1 份	无

运输及保存

常温运输，2-28℃干燥、避光保存，有效期一年；

自备物品

样品 RNA，引物，探针，280 mM 醋酸镁溶液。

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，引物 Tm 值不作为设计时主要考虑因素，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，探针的 5’端用一种抗原标记物标记，通常为 FAM 基团或羧基荧光素；内部含有碱基核苷酸类似物替换核苷酸（例如四氢呋喃残基 THF-有时称为'dSpacer'）；3’末端有聚合酶延伸阻断基团（例如 C3-spacer，磷酸基或双脱氧核苷酸）。

   注意：在开始实验前检查探针 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相匹配；建议在开展 RPA 试纸条型扩增反应之前，先进行引物的筛选试验，以便得到较高的检测灵敏度。用自选方法进行核酸提取与释放。
3. 反应体系如下：

单管反应体系(25 μL)	
成分	加入量

上游引物，10 μM	1.0 μL
下游引物，10 μM	1.0 μL
RNA 样本和水	21.5 μL
280 mM 醋酸镁溶液	1.5 μL
RPA 冻干颗粒	1 粒

4. 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，混合均匀后加入装有 RPA 冻干颗粒的检测单元管中。
5. 向检测单元管中加入待测 RNA 样本。
6. 再向检测单元管盖上加入 1.5 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）。
7. 将检测单元管放入 37~40℃恒温金属浴（或恒温水浴锅）中，孵育 30 min。荧光法则每隔 30 秒，采集一次荧光信号。
8. 反应结束后，将 25 μL 反应体系液用无菌水或者 PBS 稀释（25 μL 反应体系液：150 μL 稀释剂），利用通用型核酸检测试纸条进行检测。

关联产品	基础型 RPA 核酸扩增试剂（冻干颗粒）