

## 产品组分

| 组分名称              | 组分编号    | 规格-1<br>16 RXN |
|-------------------|---------|----------------|
| 2×Reaction Buffer | RM20825 | 600 μL         |
| MgOAC             | RM20826 | 60 μL          |
| RPA PCR reagent   | RM20827 | 16 RXN         |

## 产品说明

重组酶快速扩增 (Rapid amplification of recombinant enzyme) 是一种新型核酸快速扩增技术, 可以在 37~42 °C 条件下, 10~30 min 内实现待测靶标的快速检测。本试剂盒具有灵敏度高、特异性强、反应时间短(仅需 15-25min)等优点, 反应组分为冻干微球状, 操作简便, 易于保存。

本试剂对设备要求低, 金属浴、水浴锅等即可进行反应操作, 无需购买 PCR 扩增仪等价格高昂的专属设备。

## 保存温度

运输条件: 低温运输;

储存条件: 储存温度-15 至-25°C, 避光干燥保存, 避免反复冻融;

## 检测下限

本试剂盒最低检测下限为 10-100 copies/T (依据引物筛选优化程度和检测手段)。

## 引物设计

建议使用长度在 30-35bp 的引物, 引物过短会影响扩增速度和检测灵敏度; 引物设计避免形成二级结构; 扩增子长度建议在 100-1000bp, 通常不超过 1000bp。

## 操作说明

- 提前 20 分钟将试剂盒所需组分取出, 室温融化, 震荡混匀。
- 每个微球反应管加入 25μL 2×Reaction Buffer (注: 2×Reaction Buffer 需完全融化后混匀使用);
- 每个反应管分别加入 2μL 上游引物和 2μL 下游引物(引物浓度 10μM, 对于多个反应、步骤 1 和步骤 2 可以混合后再分装至反应管中);
- 向反应管中依次加入 18.5-x μL ddH<sub>2</sub>O 和 x μL (2.5≤x≤10)核酸模板(可根据模板浓度调整加入的模板体积, 并相应调整加入的 ddH<sub>2</sub>O 体积, 至模板与 ddH<sub>2</sub>O 总体积为 18.5μL);
- 最后向反应管中加入 2.5μL MgOAC 并充分混合(请务必上下颠倒震荡反应管 5s 进行混匀; 对于多个反应, 建议将 MgOAC 加至反应管的盖子内侧, 一同离心后震荡混匀);

| 组分                 | 体积 (μL)      |
|--------------------|--------------|
| 2×Reaction Buffer  | 25           |
| 上游引物 (10μM)        | 2            |
| 下游引物 (10μM)        | 2            |
| ddH <sub>2</sub> O | 18.5-x       |
| 模板                 | 2.5 < x < 10 |
| MgOAC              | 2.5          |
| 总体积                | 50           |

- 混匀后, 将反应液甩 (或快速离心) 至管子底部, 然后立即将反应管放入恒温设备中 37-39°C 孵育 30min;
- 反应结束后, 加入 50μL 酚/氯仿, 1:1 抽提反应液, 12000rp 离心 5min, 取 5μL 上清进行琼脂糖凝胶电泳检测。或使用磁珠纯化, 纯化后取 5μL 进行琼脂糖凝胶电泳检测。

### 注意事项

1. 为避免交叉污染，试剂配制区与扩增分析区应分隔开；
2. 实验时应设置不加模板的空白对照，以确认是否有待扩增核酸的污染；
3. 在不同的核酸提取方法下，所提取的样本 DNA 含量和纯度会有差异，可能会导致出现扩增效率不一的现象（如 PCR 抑制剂：乙醇、苯酚、血红素等等）；
4. 阳性标准品建议添加 2.5 $\mu$ L，待检样本添加量范围为 2.5 $\mu$ L~10 $\mu$ L。如果待检样本浓度较高，则仅需添加 2.5 $\mu$ L，反之，则加大样本添加量，最大体积不超过 10 $\mu$ L。