

## WarmStart RDA (RNase H depended Amplification)

### 核酸扩增试剂（颗粒）说明书

#### 【规格及货号】

应用	产品名称	货号	状态	规格	备注
RNA DNA	WarmStart RDA核酸扩增试剂 2.0 (With UDG)	9092110E2	固体，球形颗粒	25 $\mu$ L $\times$ 96颗/瓶	

★ 科研试剂。

#### 【储存及有效期】

本产品存储于2~28 $^{\circ}$ C干燥和避光条件下，有效期为12个月。

#### 【产品说明】

- 1) 本产品为Mix冻干球制品，包含恒温扩增所用的 Bst 2.0 DNA 聚合酶、逆转录酶(RTase)、RNase H2、Mg<sup>2+</sup>、dNTPs、缓冲盐、冻干保护剂（Poly A和T.E.T）等。
- 2) 使用时只需要加入引物、模板、染料或探针(RNA修饰)即可进行核酸恒温扩增；该体系经过特殊配方优化，兼容RT-LAM/LAMP体系。
- 3) 本产品未添加任何显色染料，可根据实验者需求，自行搭配相关染料或检测手段进行RDA 或 LAMP反应，包括搭配 OG 染料管进行橙绿变色、搭配标记 Oligo 进行试纸条检测、搭配荧光染料进行荧光检测、搭配 Molecular Beacon 探针进行荧光检测等方法。
- 4) 使用适配体修饰的WarmStart Bst 2.0 DNA 聚合酶，可有效的降低非特异性扩增。
- 5) 引入热敏UNG-dUTP系统，避免了DNA 气溶胶污染。

#### 【技术原理】

RDA (RNase H depended Amplification)为RNase H介导的核酸扩增技术；应用RNase H 特异性切割DNA-RNA杂合链中的RNA，形成缺口；Bst DNA聚合酶识别缺口并继续合成DNA。RDA 扩增技术需要引物上1~4个碱基RNA修饰，修饰位置优选引物3'-末端起n-7~n-15碱基；上下游引物都需要RNA修饰。PCR引物、LAMP引物及RPA引物可以无缝平移至RDA 扩增体系。

**LAMP 引物RNA修饰后；扩增效率极大提升，可在10分钟内完成检测；敏感性远超PCR。**

#### 【产品用途】

本产品可应用于脱氧核糖核酸（DNA）或核糖核酸（RNA）的快速扩增；

- 1) 反应体系为25 $\mu$ L/RXN；

- 2) 本试剂含dUTP-UDG; 可以有效的避免气溶胶污染;
- 3) 本产品可用于细菌或病毒直扩; 配套核酸释放剂;
- 4) RDA 低拷贝最快可在15分钟内出峰, 20分钟内完成检测;
- 5) DNA检测: 引物和模板需要95°C预变性2~5分钟; 降温溶解冻干球。

### 【外观颜色】

本产品为白色球状固体。

### 【适用仪器】

恒温金属浴、恒温水浴锅、荧光PCR仪。

### 【检测步骤】

1. 核酸样本提取: 请参考DNA/RNA 提取方法或其他同效商品化试剂盒提取核酸样本。
2. 样本检测
- 2.1 反应体系:

物质名称	体积
核酸(DNA/RNA)	x $\mu$ L
引物Mix (10 $\times$ )	2.5 $\mu$ L
荧光染料(25 $\times$ )	1 $\mu$ L
冻干球	1颗
Nuclease-free Water	up to 25 $\mu$ L(不含球体积)

(※LAMP: 建议引物Mix (10 $\times$ )浓度为16  $\mu$ M FIP/BIP, 2  $\mu$ M F3/B3, 4-8  $\mu$ M LF/LB each)

#### 2.2 操作步骤

- 2.2.1 根据反应数量, 按照反应体系配制含有水、引物的 Mix及染料混合均匀后加入装有核酸扩增试剂的检测单元管中, 溶解冻干球;
- 2.2.2 向检测单元管中加入经步骤1处理得到的待测核酸样本;
- 2.2.3 盖上管盖, 上下颠倒 轻甩充分混匀5-6次, 低速离心10 sec;
- 2.2.4 60-65°C恒温孵育1 h, 观察荧光曲线或扩增产物;
- 2.2.5 Fast-LAMP 需要优化引物体系, 可在20分钟内完成检测。

### 【注意事项】

1. 关于矿物油的使用, 在配制完反应体系后, 可加入5-10  $\mu$ L矿物油覆盖于反应液上部, 以减少气溶胶的污染;

矿物油不影响恒温扩增反应。

2. 在使用荧光染料时，可以使用SybGreen或其他DNA双链荧光染料，使用浓度可自行优化。参考供应商提供浓度的0.25~0.8x，过高浓度的染料可能导致扩增失败。
3. 引物及染料体系可以于制成烘干管底，再加入一颗冻干球即可配套成全体系检测试剂。本公司也提供引物-染料管底的制备服务或与Mix一起冻干。
4. 如果用本产品进行核酸检测，应当谨防扩增产物DNA造成的气溶胶污染，建议在PCR操作间中操作；扩增后的阳性样本不建议开盖，建议置于密闭塑料容器后丢弃。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
6. 本产品仅作科研用途。
7. 反应结束后，琼脂糖电泳或试纸条检测时，请注意防气溶胶污染。
8. 开始检测前请仔细阅读本说明书全文，并严格按照要求进行操作。
9. 不同类型样品所提取的核酸含量和纯度有差异，可能导致扩增效率不同。
10. 当实验室环境、试剂、仪器或配件存在阳性物质（例如质粒、扩增产物等）污染，或样本间存在交叉污染的情况时，会影响检测结果准确性，出现假阳性结果。
11. 务必保证试剂保存、配制或运输得当，否则可能导致试剂检测性能下降，出现假阴性结果。
12. 请严格按照基因扩增实验室的管理规范进行操作。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。

#### 【生产企业】

名称：苏州可尔生命科技有限公司

地址：苏州市虎丘区科技城锦峰路8号17-202.

电话：13401346531

邮箱：info@keerlife.com

#### 【版本号】 1.2版