



RT-RPA 专用逆转录酶

RT-RPA Reverse Transcriptase Instructions

✉ info@ezassay.com

🌐 www.ezassay.com

深圳易致生物科技有限公司

目录编码: RT-RP-2000
RT-RP-10000

目录 CONTENTS

内容	页码
产品信息	1
产品简介	1
试剂盒组成	1
储存	1
模板类型	1
单位定义	2
产品特点	2
RT-RPA应用示例	2
RT-RPA体系中不同逆转录酶扩增性能对比	2

产品信息	
产品名称	RT-RPA专用逆转录酶(200 U/μl)
表达系统	E.coli大肠杆菌
性 质	重组蛋白
形 式	液体

产品简介

Product Introduction

RPA专用逆转录酶（Reverse Transcriptase for RPA）是一款基于 M-MLV 逆转录酶工程改造开发的高性能逆转录酶，专为 RT-RPA（Reverse Transcription Recombinase Polymerase Amplification）应用优化。

与传统 M-MLV 逆转录酶相比，本产品对多种常见扩增抑制剂具有更强的耐受性，可从复杂 RNA 样本中稳定、高效地合成 cDNA。在 RPA 所需的 37–45°C 恒温条件下仍保持优异的逆转录活性，特别适用于快速恒温 RNA 检测。

本产品具有逆转录速度快、灵敏度高、适用 RNA 模板范围广等特点，可为 RT-RPA 检测提供稳定可靠的 cDNA 合成效率。

试剂盒组成

Materials supplied

货号	RT-RP-2000	RT-RP-10000
RT-RPA专用逆转录酶(200 U/μl)	2000U	10000U

储存

Storage

-20°C保存。收到后，建议分装，避免反复冻融。

模板类型

Template type

ssDNA, ssRNA, RNA-DNA hybrid

单位定义

Unit definition

以Poly (rA) · Oligo (dT)为模板/引物，在37℃， 10 min条件下，掺入1 nmol的dTTP为酸不溶性物质所需要的酶量定义为1个活性单位 (U)

产品特点

Product Features

- 基于工程化 M-MLV 逆转录酶，专为 RT-RPA 应用优化
- 在 37–45℃ 恒温条件下具有优异的逆转录活性
- 对常见扩增抑制剂具有较高耐受性
- 适用于复杂 RNA 样本，检测性能稳定
- 兼容一步法 RT-RPA 检测体系
- cDNA 合成效率高，逆转录速度快
- 适用于快速分子诊断及 POCT 应用

RT-RPA应用示例

Example of application in RT-RPA

- 1) 设置仪器温度至42℃。
若使用PCR仪，请确保关闭热盖或调至45℃。
请注意设置温度与实际温度可能存在有差异。建议首次使用时进行温度梯度测试，例如配置3个反应，分别在 39℃、42℃ 和 45 °C下进行对比以确定最佳反应温度。
- 2) 参考如下表格中设置的20 μL反应体系。

Component	RT-RPA	Working concentration
RPA reaction buffer (2X)	10 μL	1X
dNTP Mix (10 mM each)	0.4 μL	0.2 mM (each)
Forward primer*	Varies	0.3 μM
Reverse primer	Varies	0.3 μM
T4 UvsX protein	0.5 μL	0.03 mg/mL
T4 UvsY protein	0.5 μL	0.03 mg/mL
T4 Gene 32 protein	0.5 μL	0.4 mg/mL

Bsu DNA Polymerase (large fragment) (6 U/μL)**	0.5 μL	0.15 U/μL
RT-RPA专用逆转录酶(200 U/μl)	0.2~0.6 μL	2~6 U/μL
RNA template	Varies	-
Murine RNase Inhibitor	0.8 μL	1.6 U/μL
Mg(OAc)2 (280 mM) ***	1μL	14 mM
Nuclease-free water	Up to 25μl	-

*对于单重RT-RPA 反应，建议每条引物的终浓度为 0.3 μM。对于多重RPA 反应，建议将每条引物的终浓度降低至 0.1 μM。如有需要，可在 0.1–0.3 μM 范围内对引物浓度进行优化。

** Bsu Polymerase 在反应体系中的终浓度可在 0.015–0.15 U/μL 范围内调整。在某些情况下，适当降低聚合酶浓度有助于提高目标扩增的特异性和灵敏度。

*** Mg(OAc)₂ 应最后加入，并分别添加至各反应体系中，因为 Mg(OAc)₂ 是启动 RPA 反应的关键组分。

- 3) 上下颠倒甩动反应管，瞬时离心，重复3次，确保混匀。RPA Reaction Tube中冻干粉应当完全溶解并混匀。请注意避免剧烈涡旋震荡。
- 4) 将反应管放置仪器中，42℃孵育20~40分钟，得到RT-RPA扩增产物。
- 5) 95℃ 加热 5 分钟终止反应。随后取 1–10 μL 扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳检测，推荐使用 2%–3% 琼脂糖凝胶。
- 需要注意的是，高温变性不能完全去除反应体系中的蛋白成分，可能会对后续产物分析产生一定影响。为获得更清晰、可靠的电泳结果，建议先对扩增产物进行 DNA 纯化，再进行琼脂糖凝胶电泳。推荐使用本公司的 DNA 提取与纯化试剂盒（磁珠法）（货号：MB-WG-050）进行纯化。请注意，市场上部分扩增产物纯化试剂盒可能不适用于 RPA 扩增产物，可能导致 DNA 回收效率降低，从而出现假阴性结果。

RT-RPA体系中不同逆转录酶扩增性能对比

Comparison of Amplification Performance in the RT-RPA System

在相同RPA反应条件下，以相同浓度RNA模板为检测对象，对比RT-RPA专用逆转录酶与M-MLV (H-)的RNA扩增性能。结果显示，RT-RPA专用逆转录酶可显著提升扩增动力学性能，相比M-MLV (H-)，阈值时间（Time to Threshold）缩短约60%，终点荧光信号强度提高约80%。

项目	RT-RPA专用逆转录酶	M-MLV (H-)
阈值时间	5 min	8 min
荧光值	19470 RFU	10860 RFU

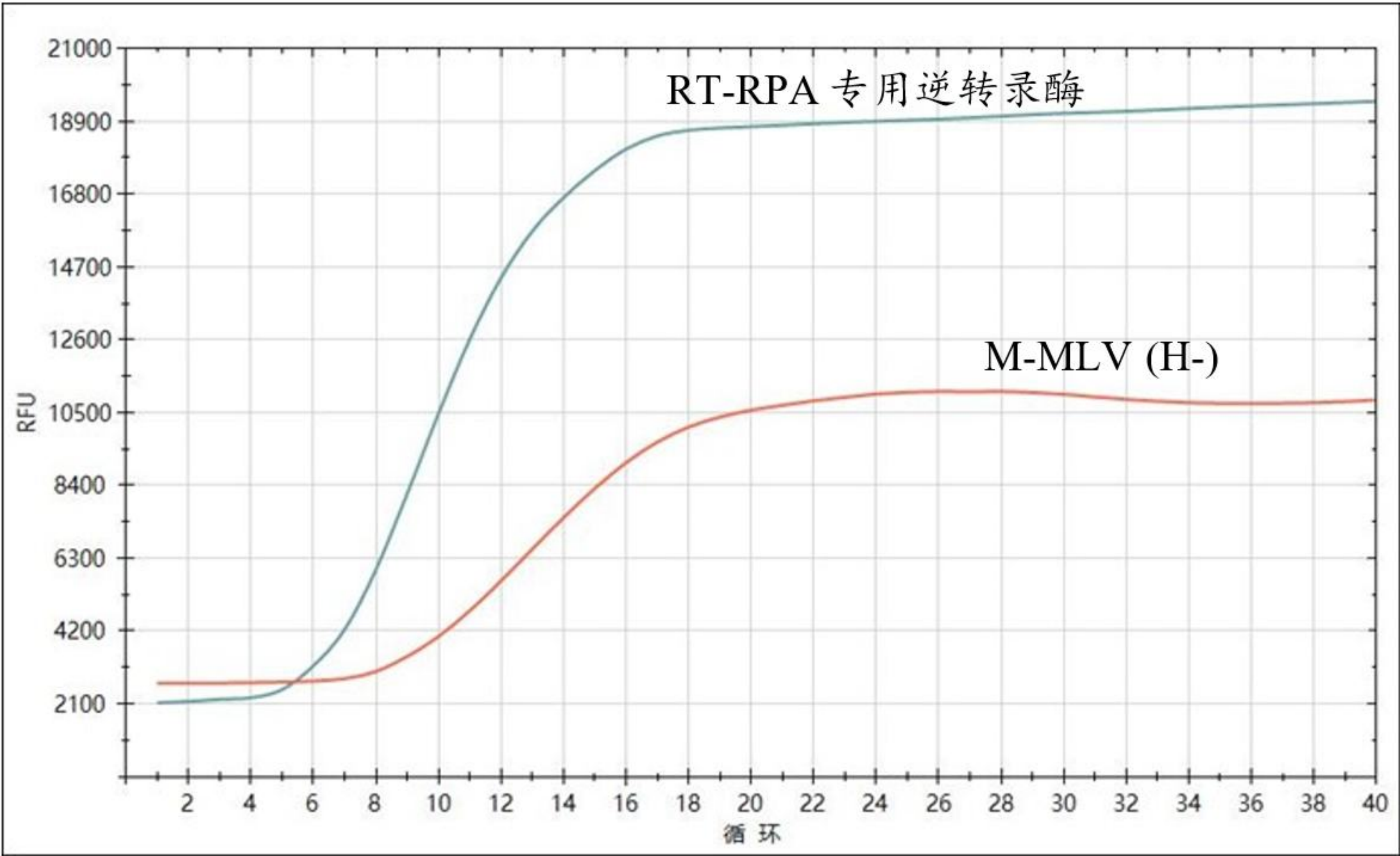


图1、RT-RPA专用逆转录酶与M-MLV (H-)在RNA恒温扩增体系中的性能比较