

公司产品仅供科学研究使用、不得用于临床诊断！

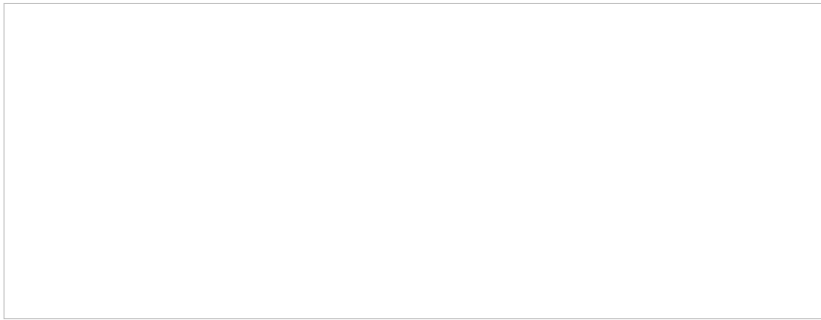
商品属性：

产品名称	规格	货号
T4 UvsX Recombinase	3 mg	A-PJ1165
T4 UvsX Recombinase	300 µg	A-PJ1165

描述：

UvsX 重组酶，来源于 T4 噬菌体，是 RecA/Rad51 家族的同源体。RecA/Rad51 重组酶家族在双链 DNA 断裂的无误修复和复制又重新启动的过程中起到重要作用。

T4 UvsX 重组酶可与其他重组酶一起锚定在单链 DNA 上并激活其在其他双链 DNA 上寻找同源序列，以进一步完成链置换。经检测，该酶无核酸酶活性。



储存：

置于-20°C 可保存 1 年，-80°C 长期保存，短期使用置于 4°C，保存一个月，避免反复冻融。

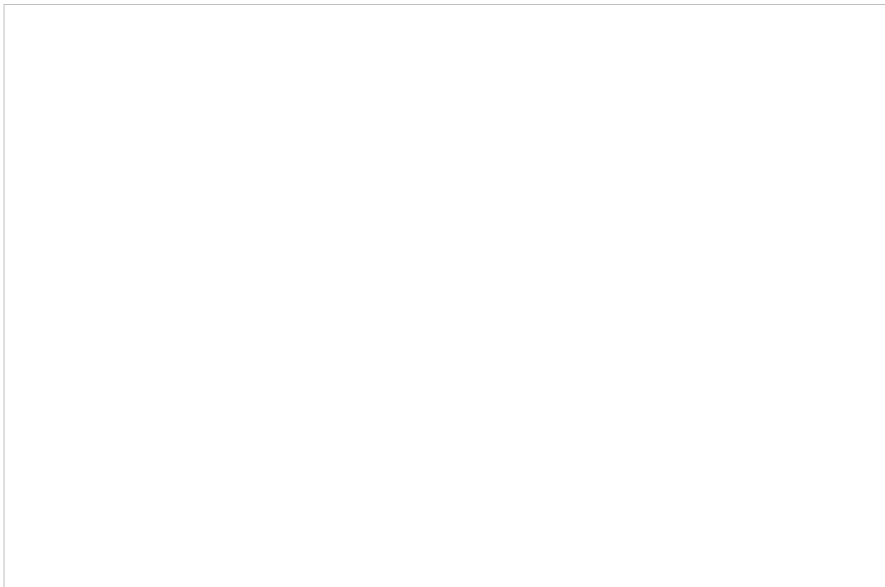
热失活：60°C，10min。

酶储存液：50 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM

EDTA, 10% Trehalose, pH 7.5。2xRPA BufferMix：包含反应缓冲盐、ATP、磷酸肌酸、dNTP、PEG、DTT、BSA 等，可用于 RPA 扩增试验。该试剂 4°C

条件下放置 1 个月性能无下降。

基于本蛋白进行 RPA 反应测试的全套试剂



用于 RPA 扩增的测试引物与探针

CPV-F (20uM) CACTTACTAAGAACAGGTGATGAATTTGCTACAG

CPV-R (20uM) AGTTTGTATTTCCCATTTGAGTTACACCACGTCT

Probe (10uM) CCTCAAGCTGAAGGAGGTACTAACTTTGGT[dT-BHQ1]

[THF][dT-FAM]ATAGGAGTTCAACAAG -(C3)

Canine parvovirus type 2, VP2

加入 1μl 的模板 DNA，上机反应前加入 1.25 μl 的 280 mM Mg(OAc)₂ (终浓度 14 mM)，总反应体积 25 μl。混合均匀，并离心，置于 39-42°C 条件下反应 30min。

2. 进行荧光 RPA 扩增在进行荧光检测时体系中，额外加入 0.3 μl 的 10μM Probe (120 nM 的终浓度) 和 50U 的 Exonuclease III (2U/μl 的终浓度)，即可进行荧光检测。本方法应用原理为 ExoIII 切割 THF 位点，使荧光与猝灭基团分离，报告荧光信号。

特别说明：

(1) 以上 RPA 扩增测试属于蛋白功能性测试，按照以上实验操作流程，可获得 RPA 扩增产物。进一步的优化，包括：X、Y、GP32、聚合酶、反应 Buffer，甚至加样顺序，均可能进一步提高 RPA 的扩增性能。

(2) 关于 DNA 聚合酶的选择，测试了三种常见的 DNA 聚合酶，在进行荧光法测定时，推荐的选择顺序依次为 Bst 4.0>Bsu>Sau，且在 42°C 条件下，总能获得最快的扩增速度，且荧光信号更强。在 Basic 扩增中 Sau 表现出特异性扩增能力更佳。

(3) 关于 RPA 的灵敏度与非特异扩增，在 Basic 试剂的扩增中，仍然存在非特异扩增产物，这需要进一步优化反应组分及引物序列。在使用荧光探针法时，但由于特异性探针的存在，非特异扩增产物通常无荧光信号值，但此时会影响检测灵敏度。GP32 蛋白的浓度增加会显著降低非特异性扩增，但会导致扩增速度减缓，此时需要同步增加 X 与 Y 蛋白的用量，以维持 RPA 的扩增速度。

(4) 据文献报道，在进行试纸条 RPA 实验时，倾向使用 Nfo 内切酶又名 Endonuclease IV，来对扩增探针进行切割，但未予测试，目前无法提供相应参数。

(5) RPA 反应 Buffer 对扩增至关重要，轻微的浓度差异，均可导致扩增效率大幅下降，甚至失败。RPA Buffer Mix 为粘稠试剂，使用时务必保证加样准确，Tip 头中的残液务必完全打入 EP 管中。