天净沙系列

CAT#:220975-50

低温运输，-20℃保存

BINGENE

染料法实时 RCA 试剂盒

（线状双链 DNA 模板专用）

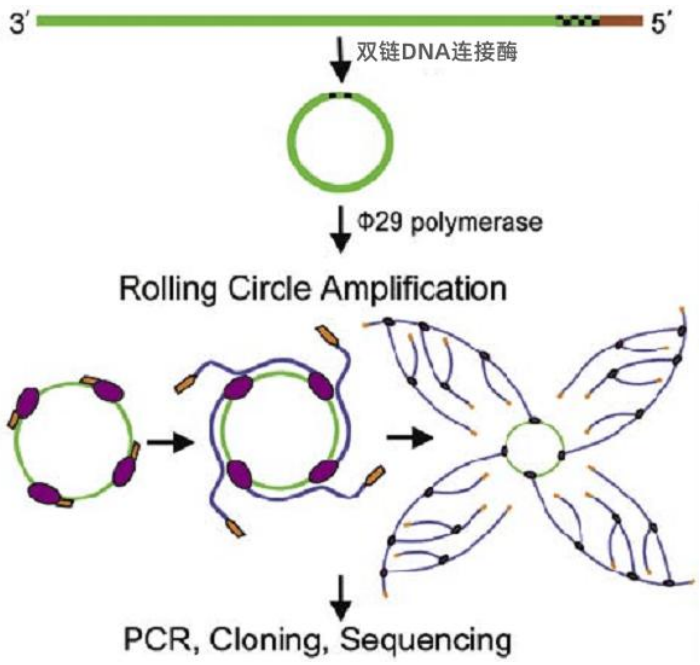
使用手册 1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址：www.bingene.com；电话：400-6005850；电邮：order@bingene.com

产品及特点

RCA（Rolling Circle Amplification，滚环扩增）是利用 phi29 DNA 多聚酶的超长合成能力，在一定条件下（如随机引物、dNTP、Mg 离子存在时）能够以线状的超长 DNA 或环化后的短 DNA 为模板进行的全基因组扩增。本产品是基于 RCA 原理的、专门以线状双链 DNA 为模板的 RCA 试剂盒，其原理示意图如下：



本公司具有下列特点：

1. 即开即用，十分简单方便，用户不需要辛苦摸索条件。
2. 含有双链 DNA 连接酶，可以环化从 100bp 到几千 bp 的各种长度的双链 DNA，制备 RCA 的模板。
3. 适用于从石蜡切片 DNA，血清血浆游离 DNA，凋亡细胞 DNA 等各种材料。
4. 含荧光染料，可以实时监控 RCA 反应过程，不需要实验结束后再跑电泳，节约宝贵样品（因为进行 RCA 扩增的样品都非常珍贵）。
5. 可以将模板 DNA 扩增上万倍。
6. RCA 属于恒温扩增，操作简单。但如果要实时监测反应，需要荧光定量 PCR 仪器。如果没有，则只能电泳检测扩增效果。
7. 本产品足够 25 次 5uL 体系的线状双链 DNA 的环化反应和 25 次 10uL 体系的 RCA 反应。
8. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用五孔盒包装

成份	编号	规格	包装材料
2×双链 DNA 环化 Mix	220975a	135 uL	0.5mL 蓝盖管
双链 DNA 连接酶 A	220975b	12.5uL	0.5mL 黄盖管
双链 DNA 连接酶 B	220975c	12.5uL	0.5mL 白盖管
2×染料法实时 RCA Mix（无酶）	221081a	75 uL	0.5mL 绿盖管
Phi29 DNA 聚合酶，10uL/uL	221081b	25 uL	0.5mL 红盖管
使用手册	220975sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效期为一年。

自备试剂

DNA 模板、超纯水。

使用方法

1. DNA 环化反应。用户需要先纯化线状双链 DNA 模板，长度不限，并需要准确测定其浓度，并用超纯水稀释到 2-5ng/uL。然 shuang 按下表设置 20uL 体系的线状双链 DNA 环化反应：

成分	管 1 （样本）	管 2 （无模板对照）
自备线状双链 DNA 模板，1-2ng/uL	2.0 uL	-
2×双链 DNA 环化 Mix（无酶）	2.5 uL	2.5 uL
双链 DNA 连接酶 A	0.5 uL	0.5 uL
自备超纯水	-	2.0 uL
终体积	5.0 uL	5.0 uL
12℃保温 15 分钟后 75℃ 20 分种		
各加入双链 DNA 连接酶 B 0.25uL		
室温保温 2 小时后 65℃ 10 分种		

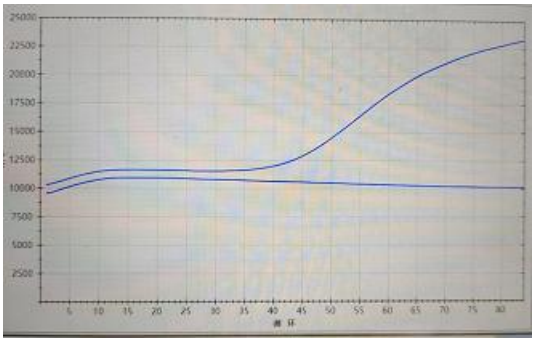
2. 在上步所得的反应管中，按下表设置 10uL 的 RCA 反应：

成分	管 1 （样本）	管 2 （无模板对照）
样品管的环化反应液体	4 uL	-
无模板对照管的环化反应液		4 uL
2×染料法实时 RCA Mix（无酶）	5 uL	5 uL
95℃ 3 分种后立即放冰上 1 分钟		

Phi29 DNA 聚合酶，10U/uL	1 uL	1 uL
合计	10 uL	10 uL

3. 放荧光定量 PCR 仪器上，30℃保温 24 小时。每 10 分钟设置成一个循环，采集一次 SYBR 通道的荧光信号。

4. 有扩增的将有平缓的 S 曲线，无模板对照见没有此曲线（见下图）：



5. 如果没有荧光定量 PCR 仪器，则只能电泳检测或 PCR 检测是否有扩增。

关联产品 染料法实时RCA试剂盒（环状单链DNA模板专用）