

天
净
沙
系
列

CAT#:221004-50
低温运输, -20℃保存

BINGENE

单链 DNA 环化试剂盒

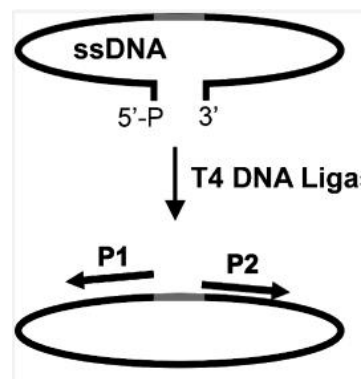
使用手册 1.0

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

易错 RCA (Error-Prone Rolling Circle Amplification) 是利用 phi29 DNA 多聚酶在一定条件下 (如不同的 dNTP 浓度、不同的 Mg 浓度和 MnCl₂ 存在时) 能够按较高的机率引入随机引入突变。易错 RCA 弥补了易错 PCR 的巨大缺陷, 其中一个缺陷是易错 PCR 没法使用短的 DNA 片段, 因为 PCR 引物就占了 40 个 bp 左右, 故不适合小片段 DNA 突变。但任何短链 DNA 经过环化后, 均可进行易错 RCA, 故易错 RCA 可以对短的 DNA 片段进行突变。单链 DNA 模板易错 RCA 示意图如下:



本公司基于上述原理, 精心开发了本产品, 它具有下列特点:

- 1. 即开即用, 十分简单方便, 用户不需要辛苦摸索条件。
- 2. 配方经过精心优化, 突变率稳定, 一般能产生 3-5 个突变/kb。如果需要更高的突变率, 只需把上一次易错 RCA 的产物用作下一次易错 RCA 的模板即可。
- 3. 靶分子 DNA 可以是长度只有几十 bp 的小片段 DNA, 如启动子, 适配子, 酶活性区, 核糖体结合区等。
- 4. 含单链 DNA 环化试剂, 可将线状 DNA 环化。如果模板已经是环状 DNA, 则可选购不含单链 DNA 环化试剂的另一款关联产品 (产品编号为 221006) 。
- 5. RCA 属于恒温扩增, 只需要水浴或金属浴, 不需要贵重的 PCR 仪器。
- 6. 本产品足够 50 次 100uL 体系的单链 DNA 环化反应, 50 次 20uL 体系的易错 RCA 反应。
- 7. 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×单链 DNA 环化预混液	221004a	250 uL	0.5mL 白盖管	
	线状单链 DNA 清除剂	221004b	50 uL	0.5mL 黄盖管	
	使用手册	220961sc	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	超纯水。				
使用方法	1. 准备单链 DNA 模板：可以用自选的方法制备单链 DNA 模板，最简单的方式是直接人工合成单链 DNA，但必须将 5 端修饰为磷酸基团（合成 DNA 5 端的默认基团是-OH）。为了方便后续克隆，可以在待突变片段两端设计成专一的、不存在于其他位置的限制性内切酶位点。				
	2. 单链 DNA 环化。				
	成分	样品管	阴性对照 1	阴性对照 2	
	5 端磷酸化的单链 DNA（终浓度为 100nM）	50 uL	50 uL	50 uL	
	95℃加热 5 分钟，冰浴 10 分钟				
	2×单链 DNA 环化预混液	50 uL	50uL		
	超纯水	-		50uL	
	60℃保温 1 小时				
	单链 DNA 环化终止液	1 uL		1 uL	
	超纯水		1 uL		
	37℃保温 12 小时或过夜				
	3. 易错 RCA 结束后，各取 3uL 进行电泳检查。跟阴性对照 2 比较多出得一条带就是合成的环状 DNA。				
	关联产品	环状DNA模板易错RCA试剂盒			