

天
净
沙
系
列

CAT#:221006-50
低温运输, -20℃保存

BINGENE

环状 DNA 模板易错 RCA 试剂盒

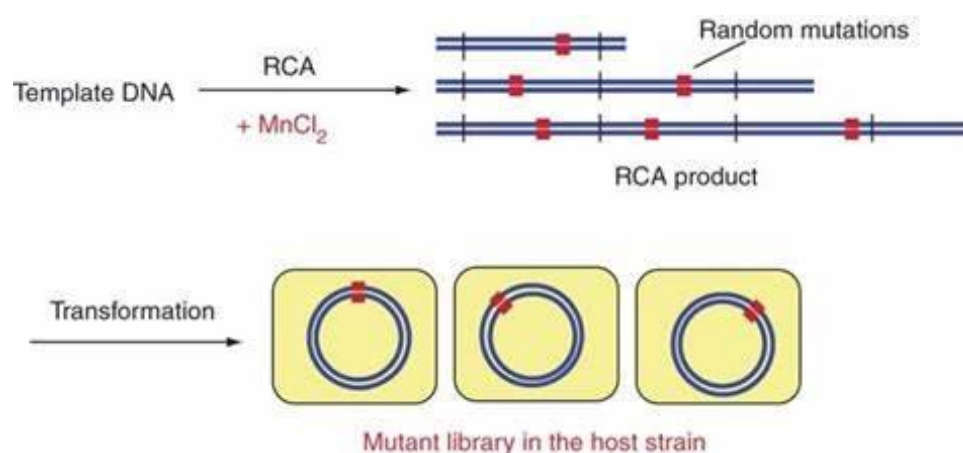
使用手册 1.0

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 Taq DNA 聚合酶的连续合成能力低, 故易错 PCR 的模板一般不能超过 1kb。而 phi29 DNA 聚合酶可连续合成长达 70kb 的 DNA, 故易错 RCA 可以直接使用几乎任何长度的质粒为模板。并且扩增后还可以直接进行转化, 免去纯化和克隆的麻烦。环状模板易错 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 可以是各种长度的质粒, 甚至全基因组。
4. 易错 RCA 的扩增产品可以直接转化, 免去后续纯化和克隆等操作。
5. 易错 RCA 的产物简单稀释后, 还可以通过全基因组扩增制备更多 DNA (本产品不含相关试剂)。
6. 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。
7. 本产品足够 50 次 20uL 体系的易错 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
	4×易错 RCA 预混液（待加酶）	221006a	200 uL	0.5mL 蓝盖管
	易错 RCA 专用 DNA 聚合酶	221006c	50 uL	0.5mL 红盖管
	易错 RCA 专用 MnCl2	221006b	50 uL	0.5mL 绿盖管
	使用手册	221006sc	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. 易错 RCA 反应。第一次使用本产品时，先将易错 RCA 专用 DNA 聚合酶全部加入到 4×易错 RCA 预混液（待加酶）中，轻柔颠倒混匀。没有用完的 4×易错 RCA 预混液（已加酶）需要放-20℃。最好设置三个模板浓度，按下表操作：			
	成分	模板浓度 1	模板浓度 2	模板浓度 3
	环状 DNA 模板（100pg）	1 uL	-	-
	环状 DNA 模板（500pg）		1 uL	-
	环状 DNA 模板（1ng）			1 uL
	补自备超纯水到	13 uL	13 uL	13 uL
	95℃三分钟后室温放置，立即加入下列成分			
	易错 RCA 专用 MnCl2	1 uL	1 uL	1 uL
	4×易错 PCR Mix（已加酶）	5 uL	5 uL	5 uL
	2. 30℃保温过夜。			
3. 易错 RCA 结束后，各取 3uL 进行电泳检查。				
4. 如果没有 RCA 扩增产物，则需要分析原因。				
5. 如果有扩增产物，则直接取 1uL 进行转化。				
6. 如果需要更多 DNA 进行转化（如转化酵母需要更多 DNA），可以用超纯水将易错 RCA 的扩增产品稀释 10 倍后，再取 1uL 进行全基因组扩增（本产品不包括相关试剂），得到更多的 DNA，然后再进行转化。				
关联产品	单链DNA模板易错RCA试剂盒			