

天
净
沙
系
列

CAT#:221081-50
低温运输, -20℃保存

BINGENE

**染料法实时 RCA 试剂盒
(线状单链 DNA 模板专用)**

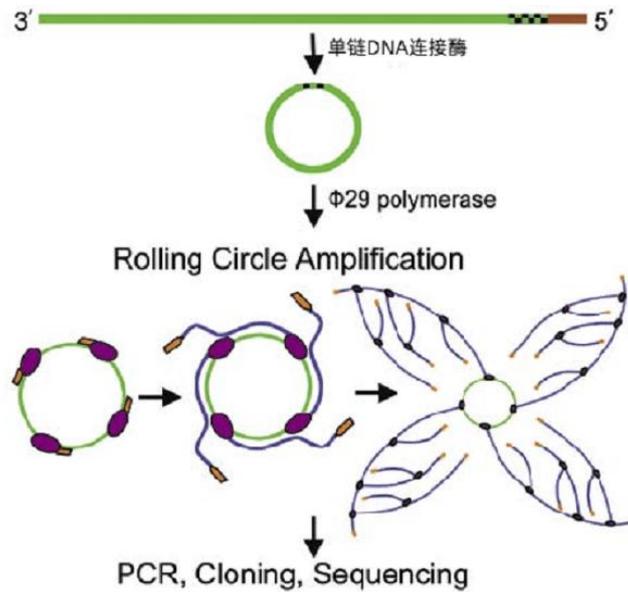
使用手册 1.0

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

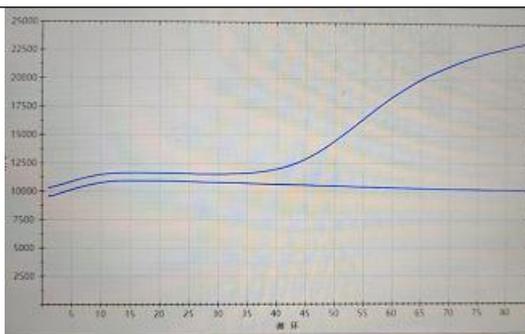
RCA (Rolling Circle Amplification, 滚环扩增) 是利用 phi29 DNA 多聚酶的超长合成能力, 在一定条件下 (如随机引物、dNTP、Mg 离子存在时) 能够以线状的超长 DNA 或环化后的短 DNA 为模板进行的全基因组扩增。本产品是基于 RCA 原理的、专门以线状单链 DNA 为模板的 RCA 试剂盒, 其原理示意图如下:



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. 含有单链 DNA 连接酶, 可以以单链 DNA 或 DNA oligo 为模板进行环化, 制备 RCA 的模板。
3. 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)。
4. 可以将模板 DNA 扩增上万倍。
5. RCA 属于恒温扩增, 操作简单, 但如果要实时监测, 需要荧光定量 PCR 仪器。如果没有, 也可以电泳检测。
6. 本产品足够 10 次 20uL 体系的线状 DNA 环化反应和 25 次 10uL 体系的 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 Mix (无酶)	221081a	100 uL	0.5mL 蓝盖管																		
	单链 DNA 连接酶	221081b	10uL	0.5mL 黄盖管																		
	染料法实时 RCA Mix (无酶)	221081c	125 uL	0.5mL 绿盖管																		
	Phi29 DNA 聚合酶, 10uL/uL	221081d	25 uL	0.5mL 红盖管																		
	使用手册	221081sc	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。按下表设置 20uL 体系的线状单链 DNA 环化反应:																					
	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">成分</th> <th style="text-align: center;">管 1 (样本)</th> <th style="text-align: center;">管 2 (无模板对照)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>线状单链 DNA 模板, 10pmol/uL</td> <td style="text-align: center;">1 uL</td> <td style="text-align: center;">-</td> </tr> <tr> <td>2×单链 DNA 环化 Mix (无酶)</td> <td style="text-align: center;">10 uL</td> <td style="text-align: center;">10 uL</td> </tr> <tr> <td>单链 DNA 连接酶</td> <td style="text-align: center;">1 uL</td> <td style="text-align: center;">1 uL</td> </tr> <tr> <td>超纯水</td> <td style="text-align: center;">8 uL</td> <td style="text-align: center;">9 uL</td> </tr> </tbody> </table>				成分	管 1 (样本)	管 2 (无模板对照)	线状单链 DNA 模板, 10pmol/uL	1 uL	-	2×单链 DNA 环化 Mix (无酶)	10 uL	10 uL	单链 DNA 连接酶	1 uL	1 uL	超纯水	8 uL	9 uL			
成分	管 1 (样本)	管 2 (无模板对照)																				
线状单链 DNA 模板, 10pmol/uL	1 uL	-																				
2×单链 DNA 环化 Mix (无酶)	10 uL	10 uL																				
单链 DNA 连接酶	1 uL	1 uL																				
超纯水	8 uL	9 uL																				
	2. 37℃保温 3 小时, 70℃灭活连接酶。																					
	3. 按下表设置 10uL 的 RCA 反应:																					
	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">成分</th> <th style="text-align: center;">管 1 (样本)</th> <th style="text-align: center;">管 2 (无模板对照)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>样品管的环化反应液体</td> <td style="text-align: center;">1 uL</td> <td style="text-align: center;">-</td> </tr> <tr> <td>无模板对照管的环化反应液</td> <td></td> <td style="text-align: center;">1 uL</td> </tr> <tr> <td>染料法实时 RCA Mix (无酶)</td> <td style="text-align: center;">8 uL</td> <td style="text-align: center;">8 uL</td> </tr> <tr> <td>Phi29 DNA 聚合酶, 10U/uL</td> <td style="text-align: center;">1 uL</td> <td style="text-align: center;">1 uL</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">合计</td> <td style="text-align: center;">10 uL</td> <td style="text-align: center;">10 uL</td> </tr> </tbody> </table>				成分	管 1 (样本)	管 2 (无模板对照)	样品管的环化反应液体	1 uL	-	无模板对照管的环化反应液		1 uL	染料法实时 RCA Mix (无酶)	8 uL	8 uL	Phi29 DNA 聚合酶, 10U/uL	1 uL	1 uL	合计	10 uL	10 uL
成分	管 1 (样本)	管 2 (无模板对照)																				
样品管的环化反应液体	1 uL	-																				
无模板对照管的环化反应液		1 uL																				
染料法实时 RCA Mix (无酶)	8 uL	8 uL																				
Phi29 DNA 聚合酶, 10U/uL	1 uL	1 uL																				
合计	10 uL	10 uL																				
	4. 放荧光定量 PCR 仪器上, 30℃保温过夜。每 10 分钟设置成一个循环, 采集一次 SYBR 通道的荧光信号。																					
	5. 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) :																					



6. 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）