



RCA滚环扩增试剂盒

RCA rolling ring amplification kit

✉ info@ezassay.com

🌐 www.ezassay.com

深圳易致生物科技有限公司

目录编码: RCA-50
RCA-500

目录 CONTENTS

内容	页码
产品名称	1
试剂盒简介	1
产品组分	1
储存	1
应用示例	2
注意事项	2

产品名称

Product name

RCA滚环扩增试剂盒/ Rolling Circle Amplification Kit

试剂盒简介

Introduction

滚环扩增（rolling circle amplification RCA）是新近发展起来的一种恒温核酸扩增方法。以环状 DNA 为模板，通过一个短的 DNA 引物（与部分环状模板互补），在 phi29 DNA polymerase 催化下将 dNTPs 转变成单链 DNA 此单链 DNA 包含成百上千个重复的模板互补片段。这种方法不仅可以直接扩增 DNA 和 RNA，还可以实现对靶核酸的信号放大，灵敏度达到一个拷贝的核酸分子。试剂盒配备的 Random Hexamers 为 6 碱基随机引物，可对目标分子进行指数放大（通常放大 100-10000 倍），特殊的实验可自行搭配相关引物。

产品组分

Content of product

货号	RCA-50	RCA-500
Phi29 DNA polymerase	10 U/ μ l * 25 μ l	50 U/ μ l * 50 μ l
10 \times Reaction Buffer	100 μ l * 1 支	1 ml * 1 支
Random Primers	50 μ l	500 μ l
10 mM dNTPs	50 μ l	500 μ l
Diluent buffer	100 μ l * 1 支	1 ml * 1 支

储存

Storage

本产品于 -20 $^{\circ}$ C 保存，避免反复冻融。

应用示例

Application example

以细菌(K.pne)基因组DNA为模板扩增
1.结合反应体系:

组份	用量
Nuclease-free Water	X μ l
10 \times Reaction Buffer	1 μ l
随机引物 (100 μ M)	1 μ l
模板DNA (4 ng)*	Y μ l
Total Volume	8 μ l

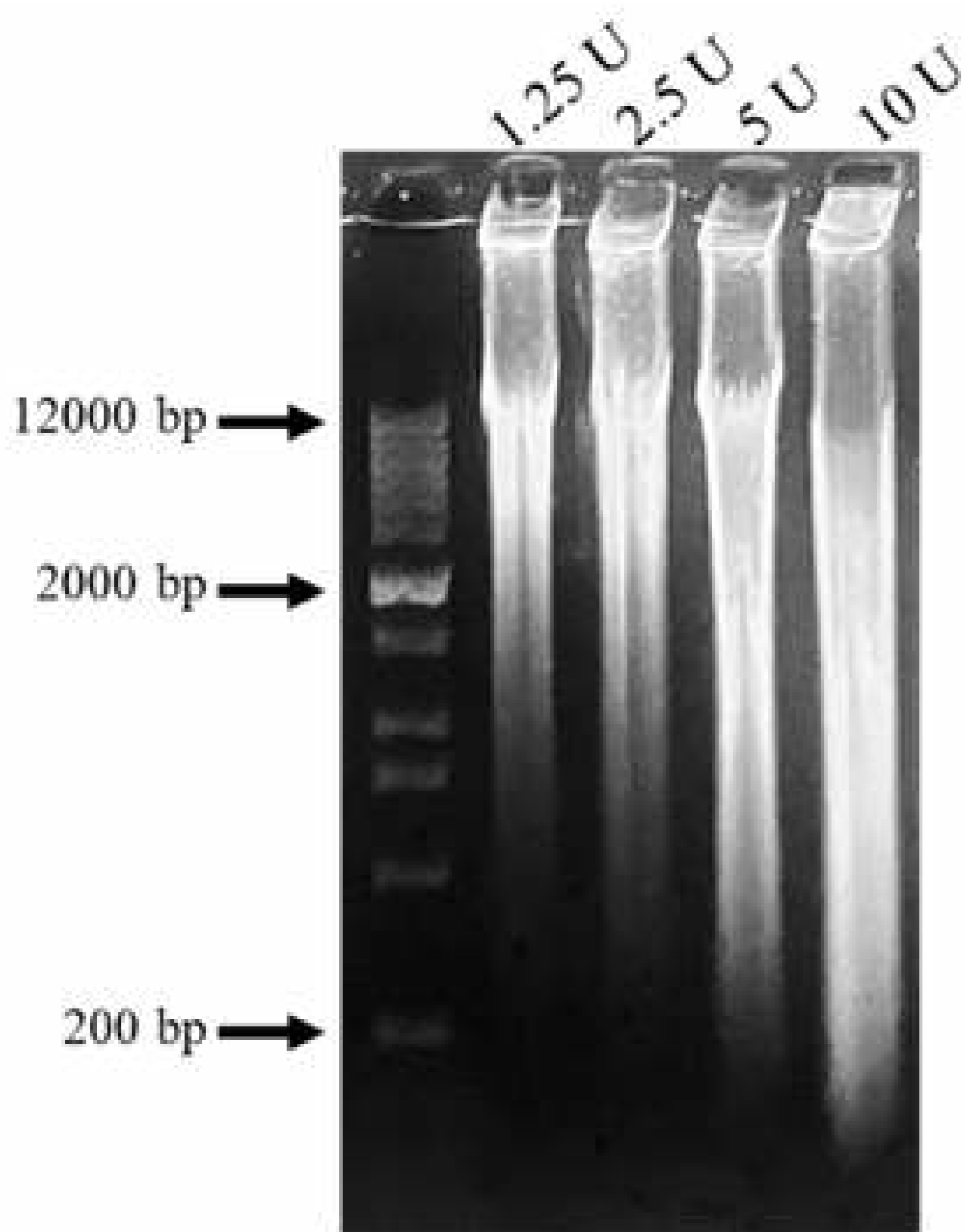
*模板投入量根据实验目的进行调整
95 $^{\circ}$ C孵育3 min, 立即置于冰上冷却5 min。
2.扩增反应体系:

组份	用量
上一步产物	8 μ l
dNTP (10 mM)**	1 μ l
Phi29 DNA Polymerase (5U/ μ l)***	1 μ l
Total Volume	10 μ l

** dNTP 的浓度优化范围 100~500 μ M;

***Phi29 DNA polymerase稀释后使用; 推荐用量为5 U/10 μ l 反应体系;优化范围: 1~10 U/10 μ l 反应体系。

振荡混匀并短暂离心收集，30°C孵育过夜。65°C孵育10 min失活Phi29 DNA polymerase，扩增产物经纯化后可用于测序及下游应用。



0.7% 琼脂糖DNA胶 (100 V, 40 分钟)

注意事项

Attention

- 1、对于需要变性的DNA样本，95°C孵育5分钟，然后4°C或冰浴2分钟。
- 2、对于全基因组扩增，可预先将Phi29 DNA polymerase, reaction buffer, ddH₂O与DNA样本混合，30°C孵育30分钟。利用Phi29 DNA polymerase的外切酶活性去除线性DNA。然后再加入随机引物和 dNTP，开始扩增反应。
- 3、推荐使用恒温水浴锅进行反应，如果使用热盖式PCR仪进行反应，请将热盖温度调整为40°C，以避免酶失活。
- 4、添加无机焦磷酸酶(Yeast Inorganic Pyrophosphatase) (货号：PPAS-0100)可进一步增强DNA的合成。

© Ezassay Biotechnology, Inc 03

核酸与蛋白产品专业提供商
Professional supplier of point-of-care test products

EZ assay 深圳易致生物科技有限公司

www.ezassay.com
info@ezassay.com