

## RCA 滚环扩增试剂盒说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

### 描述:

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 phi29DNA 聚合酶催化下将 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,因此在核酸检测中具有很大的应用价值和潜力。本试剂盒配置的 phi29 DNA 聚合酶具有链置换和连续合成特性,可连续合成长达 70kb 的 DNA 片段。另外,该酶具有 3' → 5' 外切酶校读功能,合成的 DNA 片段保真性高。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 10000 倍)。

### 组分

名称	100T
phi29 DNA Polymerase (20 U/μl)	50 μl
10×phi29 Buffer	1 ml
Yeast Pyrophosphatase (0.1 U/μl)	25 μl
10mM dNTP Mixture	200 μl
25XRandom Hexamer	100 μl

**储存:** -20℃可保存 3 年。

### 操作方法

#### 1. 配置反应液

10×phi29 Buffer	2.5 μl
10mM dNTP Mixture	2 μl
25XRandom Hexamers	1 μl
模板 DNA	0.01-20 ng
ddH <sub>2</sub> O	up to 25 μl

2. 变性退火将上述产物置于 PCR 上, 93° C 变性 3min, 25° C 5min。

3. 向上述退火产物中加入  $0.5 \mu\text{l}$  phi29 DNA Polymerase 和  $0.2 \mu\text{l}$  Yeast Pyrophosphatase, 混合均匀后放置到  $30^{\circ}\text{C}$  反应 2~16h (根据所需的产物量进行反应时间调整, 通常分别在 2h、5h、16h 进行电泳确认)。
4. 反应结束后  $65^{\circ}\text{C}$  10min 进行失活反应。

**注意:** RCA 扩增还可应用于其它缺刻或诊断相应的实验, 此时 Random Hexamer 为非必须品。