

## TempliAMP™ RCA Kit

Cellsript



**CELLSCRIPT™**  
RNA for Translation in Cells

25 Reaktionen

Artikel-Nr.: 150580 | Cellsript | Hersteller-Nr.: TAR250325

**273,00 €\***

\*zzgl. MwSt. zzgl. Versandkosten

### Beschreibung

Die Rolling Circle Amplifikation (RCA) ist eine leistungsstarke isotherme Nukleinsäureamplifikationstechnik, die besonders für die Amplifikation zirkulärer DNA-Konstrukte wie z.B. Plasmide geeignet ist. Der Prozess beginnt mit einer DNA-Matrize und kurzen DNA-Primern. Die Phi29-DNA-Polymerase verlängert die Primer und synthetisiert die DNA um die zirkuläre Matrize herum weiter, indem sie den zuvor synthetisierten DNA-Strang verdrängt, sobald sie auf ihn trifft. Das TempliAMP™ RCA Kit enthält alle erforderlichen Reagenzien für eine robuste Amplifikation zirkulärer DNA-Matrizen unter Verwendung von Phi29 degradationsresistenten Radom Primern.

### Vorteile:

- Geringe Probenmenge: Produzieren Sie µg-Mengen an DNA aus nur 1 pg Inputmaterial.
- Vielseitige DNA-Eingaben: Amplifizieren Sie DNA direkt aus gereinigten Plasmiden, Einzelkolonien, Flüssigkulturen oder Glycerinstocks.
- Genaue, robuste Amplifikation: Phi29-DNA-Polymerase bietet sowohl eine hohe Proof Reading Aktivität (Fehlerrate = ~1 in 106--107 Basen) als auch eine hohe Prozessivität.

### Produktbeschreibung

Das TempliAMP™ RCA Kit basiert auf Phi29-DNA-Polymerase, was zu einer hochpräzisen und hochspezifischen Amplifikation zirkulärer DNA-Templates führt. Das Protokoll ist einfach und effektiv und ermöglicht die Herstellung von Mikrogramm-Mengen an DNA in 4–5 Stunden aus nur 1 pg Ausgangsmaterial. Das Kit kann zur direkten Amplifikation verschiedener zirkulärer DNA-Templates verwendet werden, darunter gereinigte Plasmide, Einzelkolonien, Flüssigkulturen und Glycerinstocks. TempliAMP™ RCA Kit ist äußerst vielseitig, auf verschiedene DNA-Templates anwendbar und für eine Vielzahl von Anwendungen geeignet.

## Produkt Performance

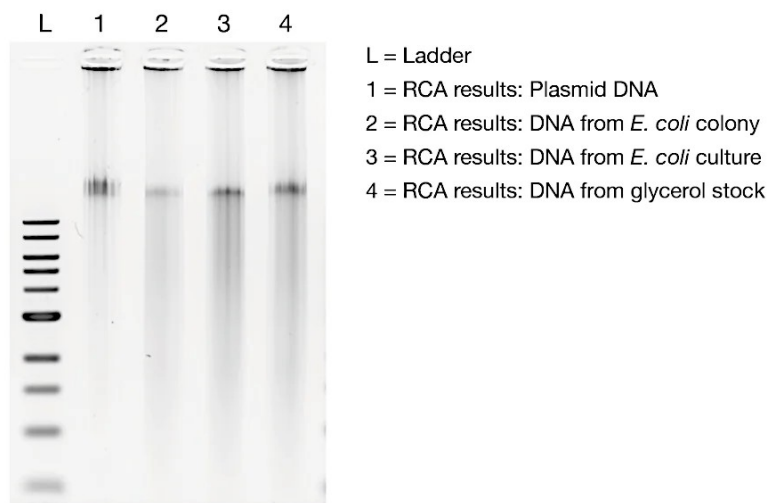


Abbildung 1. Die TempliAMP™ RCA-Reaktionen wurden gemäß den empfohlenen Protokollen unter Verwendung von gereinigtem Plasmid (3,5 ng), einer Bakterienkolonie, Flüssigkultur (2 µl einer 1:10-Verdünnung) und Glycerinstock (2 µl einer 1:10-Verdünnung) als Input durchgeführt. Die RCA-Reaktionsprodukte wurden auf einem 1 %igen nicht-denaturierenden Agarosegel sichtbar gemacht. Das TempliAMP™ RCA-Kit ermöglicht die direkte Amplifikation von gereinigtem Plasmid, Bakterienkolonien, Flüssigkulturen und Glycerinstocks.

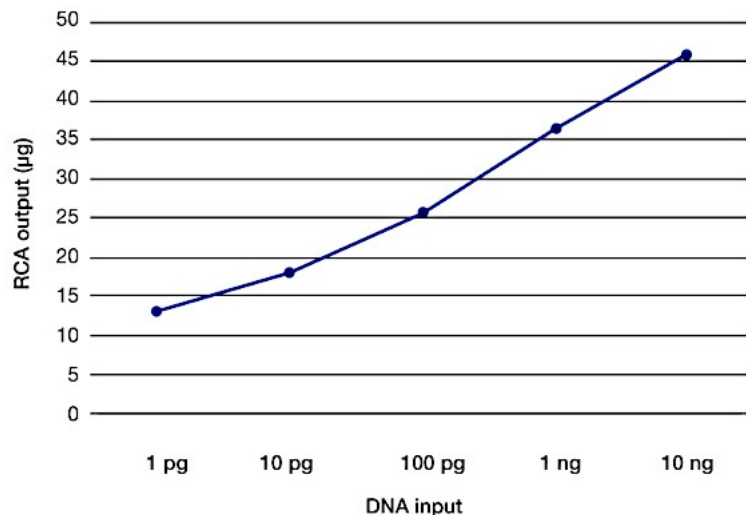


Abbildung 2. Mikrogramm-Mengen an DNA können bereits aus einer Inputmenge von nur 1 pg erzeugt werden. Das TempliAMP™-Protokoll ist für eine DNA-Inputmenge von 5 pg bis 100 ng ausgelegt.

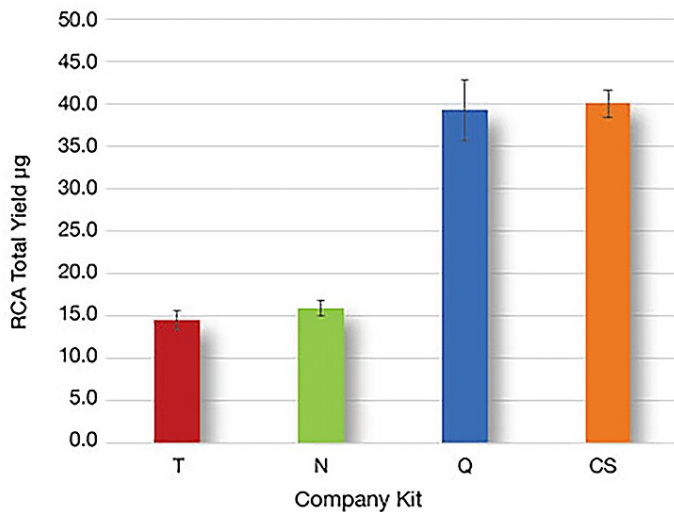


Abbildung 3. 5 ng gereinigte Plasmid-DNA wurden als Input für drei kommerzielle RCA-Kits (T, N, Q) und das TempliAMP™ RCA Kit von CELLSRIPT™ (CS) verwendet. Vierfachreaktionen wurden gemäß den Protokollen der Hersteller durchgeführt. Das TempliAMP™ RCA Kit bietet eine hervorragende DNA-Ausbeute von durchschnittlich 40 µg pro Reaktion.

## FAQs

### Was ist der Vorteil der Verwendung des TempliAMP™ RCA Kits von CELLSRIPT™?

Das TempliAMP™ RCA Kit hat den Vorteil, dass es in nur 4 Stunden aus nur 5 ng Ausgang-DNA mehr als 30 µg DNA produzieren kann. Es bietet außerdem eine hochpräzise Amplifikation unter isothermen Inkubationsbedingungen (kein Thermocycling erforderlich) und kann DNA direkt aus verschiedenen Quellen ohne Extraktion amplifizieren.

### Wie kann ich feststellen, ob mein Produkt durch eine TempliAMP™ RCA-Reaktion amplifiziert wurde?

Der erste Kontrollpunkt wäre die Überprüfung der Ausbeute. RCA-Produkte können auch mit einem Restriktionsenzym verdaut und auf einem Gel gelaufen werden, um die erwartete Größe der Verdauprodukte zu bestätigen. Das auf einem 1 %igen Agarosegel gelaufene Produkt bestätigt, dass die Amplifikation wie beabsichtigt stattgefunden hat. Der überwiegende Teil des Produkts sollte größer als 10 Kilobasen sein.

### Wie kann ich mein TempliAMP™ RCA-Reaktionsprodukt quantifizieren?

Ungereinigte RCA-Reaktionsprodukte können mit fluorometrischen Methoden wie Qubit™ oder PicoGreen® quantifiziert werden. Wenn die Probe von übrig gebliebenen dNTPs und Primern gereinigt wurde, können entweder fluorometrische Methoden oder UV-VIS-Spektrophotometrie (z. B. DS-11) verwendet werden.

## Inhalt des Kits und Lagerbedingungen

### Kit Component Reagent Volume

**TempliAMP™ Phi29 Enzyme Solution in 50% glycerol, 50 mM Tris-HCl, pH 7.5, 100 mM NaCl, 1 mM dithiothreitol (DTT), 0.1 mM EDTA and 0.1% Triton® X-100** 65 µl

**10X TempliAMP™ Reaction Buffer** 125 µl

**25 mM dNTP Solution** 50 µl

**500 µM Random Primer Mix** 65 µl

**100 mM Dithiothreitol (DTT)** 50 µl

**RNase-Free Water** 3 x 1.6 ml

Wichtig Bei -20 °C in einem Gefrierschrank ohne Abtaufunktion lagern. Nicht bei -70 °C lagern.

Random Primer Mix

5'- N N N N N \*N\*N -3', wobei N = eine beliebige DNA-Base und

\* = Phosphorthioatbindung (um einen Abbau durch die Korrekturfunktion von TempliAMP™ Phi29 zu verhindern)

## Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

- Bead-basiertes Reagenzien zur DNA-Reinigung

[HighPrep PCR | DNA + RNA Aufreinigung | Aufreinigung | Biochemikalien | Biozym Scientific GmbH](#)

- Thermocycler oder Heizblock, der eine Inkubation bei 95 °C ermöglicht

<https://www.biozym.com/laborgeraete/thermocycler-fuer-pcr/>

<https://www.biozym.com/laborgeraete/heiz-kuehlblock-thermomixer/>

- 70 % Ethanol
- Optional: Materialien für die Agarose-Gelelektrophorese und Visualisierung

<https://www.biozym.com/laborgeraete/elektrophorese-blotting/>

- Optional: Materialien für die fluoreszenzbasierte DNA-Quantifizierung

<https://www.biozym.com/laborgeraete/spektrophotometer/qfx-fluorometer/31812/qfx-fluorometer>