

phi29 DNA Polymerase

REF: EG25102-S/M

储运条件

-20°C保存

产品组成

组分	规格 S	规格 M
phi29 DNA Polymerase (10 U/μl)	50 μl	5×50 μl
10× phi29 Buffer	1 ml	2×1 ml

产品简介

phi29 DNA Polymerase 来源于 *Bacillus subtilis* 噬菌体，经基因工程改造后具有卓越的链置换和链亲和力，单次反应可合成长达 70 kb 的 DNA 片段。此外，phi29 DNA Polymerase 具有很强的 3'→5' 核酸外切酶校对活性，保真度极高；但与此同时，较强的 3'→5' 外切活性可能导致引物降解，推荐对引物 3' 末端进行硫代修饰以防止降解。

活性定义

1 单位指 30°C 条件下反应 10 min，能将 0.5 pmol 的 dNTP 掺入酸不溶性沉淀物所需要的酶量。

产品应用

1. 滚环扩增 (RCA)
2. 全基因组扩增 (WGA)
3. 多重置换扩增 (MDA)
4. 单细胞基因组扩增
5. 致死基因的无细胞体系的克隆等

质量控制

蛋白纯度

使用 SDS-PAGE 凝胶电泳检测，蛋白纯度不低于 95%。

非特异性内切酶活性

37°C 下，在 20 μl 反应体系中将 10 U phi29 DNA Polymerase 与 200 ng 超螺旋质粒 DNA 共同温育 4 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测，少于 20% 的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

DNase 活性

37°C 下，在 20 μl 反应体系中将 10 U phi29 DNA Polymerase 与 15 ng 双链 DNA 片段共同温育 16 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测，双链 DNA 片段无变化。

RNase 活性

37°C 下，在 10 μl 反应体系中将 10 U phi29 DNA Polymerase 与 500 ng RNA 共同温育 1 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测，超过 90% 的 RNA 保持完整。

宿主 DNA 残留

本品中大肠杆菌宿主细胞 DNA 残留量低于 1 拷贝 /10 U。

使用方法

1. 在 EP 管中配制如下反应体系：

试剂	使用量
模板 ^a	1 μl
10× phi29 Buffer ^b	2 μl
dNTP (10 mM)	1 μl
Random Primer (100 μM) ^c	1 μl
Pyrophosphatase, Inorganic (Yeast) ^d (0.1 U/μl)	1 μl
ddH ₂ O	Up to 19 μl

- 对于基因组模板，推荐用量 1~50 ng；对于质粒模板，推荐用量 0.1~10 ng。
- 反应缓冲液中含有 DTT，长期储存或反复冻融 10 次后请在使用前加入终浓度为 4 mM 的 DTT。
- 推荐使用 3' 硫代修饰的引物；若使用未修饰的引物，则建议提高随机引物用量，终浓度不超过 25 μM。
- Pyrophosphatase, Inorganic (Yeast) (REF: EG23109) 可选加，加入 Pyrophosphatase, Inorganic (Yeast) 可减少副产物的产生，提高目的片段产量。

2. 95°C 3 min，冰上冷却 3 min；加入 1 μl phi29 DNA polymerase (10 U/μl)；

3. 30°C 反应 1~16 h，65°C 10 min；

注意事项

1. 本制品灵敏度极高，注意防止模板污染。
2. 本品在 30~37°C 均有活性，可根据具体实验需求调整反应温度。
3. 本产品仅供科学研究使用，不得用于临床医学诊断及非合理用途。