

Phi29 DNA Polymerase

使用前请仔细阅读说明书

目录号: LP101

保存: -20°C保存两年。

浓度: 10000 units/ml

产品说明

本产品由重组 ϕ 29 DNA polymerase 基因的载体, 在大肠杆菌中经诱导表达、纯化而成, 分子量为 74.4 kDa。灵敏度高, 合成能力强, 可进行单细胞全基因组扩增; 具有 3' 到 5' 核酸外切酶活性, 使产物保真性高; 多重链置换和连续合成的特性, 使基因组或质粒的扩增产物长度 >10 kb, 并且可进行环状 DNA 的滚环复制。

特点

- 等温扩增。
- 高保真、高效率、高灵敏、高产量。
- 可使用随机或特异性的 N9 引物。

适用范围

- 测序、SNP 基因分型、STR/ 微卫星分析。
- 病毒检测、miRNA 检测等。

产品组成

Component	LP101-01	LP101-02
Phi29 DNA Polymerase	250 units	5×250 units
10×Phi29 DNA Polymerase Buffer	50 μ l	250 μ l
Phi29 Random Primers	125 μ l	625 μ l
10 mM dNTPs	25 μ l	125 μ l
10×DNA Loading Buffer	1 ml	1 ml

活性定义

30°C, 10 分钟内, 催化 0.5 pmol 脱氧核糖核苷酸 (dNTPs) 掺入到多聚核苷酸中所需的酶量定义为 1 个活性单位 (U)。

质量控制

核酸内切酶活性: 在 50 μ l 反应体系中, 1 μ g pUC19 DNA 经 100 U Phi29 DNA Polymerase 37°C 消化 4 小时, 产生的切割 DNA 比例 <10%。

核酸外切酶活性 (16 h 孵育): 在 50 μ l 反应体系中, 1 μ g 线性 pUC19 DNA 经 10 U Phi29 DNA Polymerase 37°C 孵育 16 小时, 琼脂糖电泳检测 DNA 无降解。

酶贮存缓冲液

20 mM Tris-HCl pH 7.5, 100 mM NaCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 0.5% Tween-20, 50% Glycerol

10 × Phi29 DNA Polymerase Buffer

500 mM Tris-HCl pH 7.5, 500 mM KCl, 100 mM MgCl₂, 100 mM (NH₄)₂SO₄, 50 mM DTT, 0.25% Tween-20, 2 mg/ml BSA

反应体系 (以 20 μ l 体系为例)

Component	Volume
Template	\geq 1 ng
Phi29 Random Primers	5 μ l
10 mM dNTPs	1 μ l
10×Phi29 DNA Polymerase Buffer	2 μ l
Nuclease-free Water	Variable
Total Volume	19 μ l



反应条件

95°C 孵育 3 分钟，迅速冰上冷却 3-5 分钟；

加入 1 μ l Phi29 DNA Polymerase 混匀，然后在 30°C 孵育 4-8 小时。

反应结束后，65°C 加热 10 分钟终止反应或者加入 10 \times DNA Loading Buffer 至终浓度为 1 \times 。

(若想得到更高产量的 DNA，请根据以上体系进行各组分调整并延长孵育时间)。

注意事项

- 请勿将酶在室温放置，避免影响酶的活性。
- 由于该酶具有较强的 3'-5' 外切酶活性，请尽量使用高浓度随机引物，最好使用 3' 端修饰的随机引物，如 3' 端硫代磷酸酯键引物。
- 由于该酶具有极高的灵敏度和扩增效率请务必在洁净环境下操作，并使用 Nuclease-free 的枪头和 PCR 管。
- 该酶反应缓冲液中含有 DTT，反复冻融后如果发现酶活降低，可在反应体系中加入 DTT 至终浓度 5 mM。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1-202008

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

