

Phi29 DNA Polymerase

目录号: E013

01/ 产品描述

本酶是从 *Bacillus subtilis* 噬菌体 Phi29 中克隆出的嗜温 DNA 聚合酶，利用基因重组技术，在大肠杆菌中进行表达后经多次纯化分离而得。Phi29 DNA 聚合酶具有特殊的链置换活性和高效的连续合成特性，对模板有很强的结合能力，可连续合成多达 70kb 的 DNA 片段而不从模板上解离。同时该酶具有很强 3'→5' 外切酶校正功能，保真性比 Taq DNA 聚合酶高 100 倍。

02/ 产品特点

- 1) 极高的渗入率；
- 2) 超强的链置换能力；
- 3) 保真性高；
- 4) 中温下反应。

03/ 产品用途

- 1) 恒温 protein-primed DNA 扩增；
- 2) 利用随机引物扩增 DNA；
- 3) 滚环复制；
- 4) 复制 extended-region。

04/ 活性定义

30°C 条件下，10min 内能使 0.5pmol 的 dNTPs 掺入酸不溶性物所需要酶量定义为 1 个活性单位。

05/ 质量控制

经多次柱纯化，SDS-PAGE 胶检测仅可见清晰单一目的条带，qPCR 检测无大肠杆菌 DNA 残留，无核酸内、外切酶污染。

06/ 保存温度

-20°C。

07/ 产品包装

产品组成	E013-01A	E013-01B	E013-02A	E013-02B
Phi29 DNA Polymerase (10U/μl)	12.5μl	12.5μl×5	12.5μl	12.5μl×5
10×Phi29 Buffer	1ml	1ml×5	1ml	1ml×5
100×BSA	200μl	200μl×5	200μl	200μl×5
dNTPs (10mM each)	200μl	200μl×5	-	-

08/ 使用建议

- 1) 热失活: 65°C, 10 分钟；
- 2) 保存体系: 10mM Tris-HCl (pH7.5), 100mM KCl, 1mM DTT, 0.1mM EDTA, 0.5% NP40, 0.5% Tween 20, 50% Glycerol。
- 3) 该酶缓冲液中含有还原剂 DTT 以便保证其最大酶活。故如果缓冲液不新鲜或经过反复冻融，使用前应添加 4mM DTT。
- 4) 要求更高扩增效率的反应，请选择 Novoprotein 改造的升级版 Super Phi29 DNA 聚合酶 (Cat. No: E012)。

09/ 注意事项

- 1) 本制品灵敏度极高，注意防止模板污染。
- 2) Phi29 DNA 聚合酶具有极强的 3'→5' 外切酶活性，能够降解引物，扩增反应中应使用经过硫代修饰的随机引物。

10/ 操作说明

常用反应体系（50μl）：

10×Phi29 Buffer	5μl
随机引物（1mM）	1.25μl
菌液或质粒模板（5-10ng/μl）	1μl
加 ddH ₂ O 至 45μl，95°C 预变性 5min，立即冰浴 5min	
dNTPs (10mM each)	2.5μl
100×BSA	0.5μl
Phi29 DNA Polymerase (10U/μl)	2.5μl
30°C 过夜	

热失活：65°C，10 分钟。

11/ 应用实例

测序质粒模板的制备

优点：无需细菌培养、收集、裂解和质粒 DNA 的分离与纯化，不需要离心机和 PCR 仪。

- 1) 样品处理：在平板上挑取单克隆到 10μl 无菌水中，取 1μl 进行反应。
- 2) 样品预变性与质粒扩增：按照反应体系，先进行预变性，并使引物与质粒进行退火，加入其它成分后 30°C 扩增过夜。
如选用 Super Phi29 DNA 聚合酶（Cat. No: E012）反应时间可缩短至 1 小时。
- 3) 扩增效果检测（可选）：将扩增产物稀释后进行琼脂糖凝胶电泳，如存在合适的酶切位点，可进行酶切反应检测。
- 4) 热失活：65°C，10 分钟。
- 5) 测序反应：取上述反应液 2μl 加 8μl 无菌水，即可用于直接测序。

12/ 相关产品

目录号	产品名称	目录号	产品名称
E012	Super Phi29 DNA Polymerase		