



Phi29 DNA Polymerase

目录号： CW2818S (250U)
CW2818M (1250U)

保存条件： $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$

产品内容

Component	CW2818S 250U	CW2818M 1250U
Phi29 DNA Polymerase, 10U/ μL	25 μL	125 μL
10 $\times$ Phi29 Reaction Buffer	1mL	1mL
BSA, 10mg/mL	200 μL	200 μL

产品简介

Phi29 DNA Polymerase是从 *Bacillus subtilis* 噬菌体phi29中克隆出的DNA聚合酶，利用基因重组技术，由大肠杆菌表达。本产品具有高效的DNA连续合成能力及链置换能力，同时具有3'→5'外切酶校读功能，保真度高。本产品可应用于需要强置换和连续合成的复制反应及中温条件下高保真度复制，如质粒复制、全基因组扩增等。

活性定义

在30℃，10分钟内，将0.5pmol的脱氧核苷酸掺入酸不溶性沉淀物所需的酶量定义为1个活性单位（U）。

热失活： 65℃温育10min即可失活。

质量控制

经过多次柱纯化，SDS-PAGE检测其纯度大于95%；经检测无核酸内切酶活性，无宿主残留DNA。

注意事项

该酶缓冲液中含有还原剂DTT以便保证其最大酶活性，如果缓冲液不新鲜或经过反复冻融，使用前应添加4mM的DTT。

使用方法

利用Phi29 DNA聚合酶的特殊链置换和连续合成特性，可以大大简化用于测序的环状质粒制备过程。

从细菌培养液中扩增质粒：取1μL对数中后期新鲜培养物用于以下反应。

从平板菌落中扩增质粒：挑取琼脂板上的菌落至10μL（可变）的双蒸水中，混匀，取1μL用于以下反应。

扩增已纯化的环状质粒：质粒稀释至1μg/mL，取1μL用于以下反应。

1. 样品加热变性及引物与质粒退火反应：加入以下组分，震荡混匀并短暂离心后，95℃加热3min，然后置于冰上15min。

试剂	加入量
10×Phi29 Reaction Buffer	1.0μL
随机引物（100μM）	2.5μL
样品	1.0μL
双蒸水	3.8μL

2. 扩增反应：在上述反应液中加入以下成分，震荡混匀并短暂离心后，30℃温育过夜。

试剂	加入量
dNTP（10 mM）	1μL
BSA(10mg/ml)	0.2μL
Phi29 DNA Polymerase	0.5μL

3. 65℃加热10min，热失活Phi29 DNA Polymerase，终止反应。
4. 扩增产物经稀释或纯化后即可用于测序。