

M5 Phi29 DNA 聚合酶使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Phi29 DNA 聚合酶	250u	MF461-01
M5 Phi29 DNA 聚合酶	1250u	MF461-05

【储存条件】: -20℃

【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 0.5 pmol 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%；经检测无外源核酸酶活性，无宿主残余 DNA。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 4 mM 的 DTT。

【产品组份】

	MF461-01	MF461-05
Phi29 DNA Polymerase, 10 U/μl	25 μl	125 μl
10×Phi29 Reaction Buffer	1 ml	1 ml
BSA, 10 mg/ml	200 μl	200 μl

【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 1 μl 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 10 μl (可变) 的双蒸水中，混匀，取 1 μl 用于以下反应。

扩增已纯化的环状质粒：质粒稀释至 1 μg/ml，取 1 μl 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 3 min，然后置于冰上 15 min。

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

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。

组分	加入量
dNTP (10 mM)	1.0 μl
BSA(10mg/ml)	0.2 μl
Phi29 DNA Polymerase	0.5 μl

3. 65℃ 加热 10 min，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。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。