

### 产品说明

phi29 DNA 聚合酶是嗜热脂肪芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 的噬菌体 phi29 编码的 DNA 聚合酶。此酶具有卓越的链置换和连续合成特性，并具有 3'→5' 核酸外切酶校读活性。本公司 phi29 DNA polymerase 为重组表达，并经多步纯化制备的重组 phi29 DNA polymerase。

### 活性定义

1 活性单位指在 30°C 下，1× phi29 DNA Polymerase 反应缓冲体系下，10 min 内将 0.5 pmol dNTP 掺入酸不溶性物质所需的酶量。

### 活性测定条件

50 mM Tris-HCl, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 4 mM DTT, (pH 7.5 @ 25°C), 100 µg/ml BSA。

浓度：30U/µl

保存条件：-20°C 保存

### 特点

- 缺乏 5' → 3' 核酸外切酶活性
- 超强链置换能力
- 超强连续合成能力
- 扩增的高保真性
- 热失活 65°C×10min

### 适用范围

- 缝隙填充(无切口平移活性)
- 链置换和 DNA 连续合成反应
- 常温下 DNA 高忠实性快速滚环复制
- 单分子长片段 DNA 高保真合成

### 产品包装规格及组成

Component	AE0503A	AE0503B
phi29 DNA Polymerase	1kU	5kU
10×phi29 DNA Polymerase Buffer	0.2ml	1.0ml

### 质量控制

相关测试表明无外源内切、外切脱氧核糖核酸酶、RNase 污染。PCR 方法检测无宿主残余 DNA。

### 酶贮存缓冲液

10 mM Tris-HCl, 100 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50% Glycerol, 0.5% Tween® 20, 0.5% IGEPAL® CA-630, pH 7.4@ 25°C。

### 注意事项

- 特殊情况下可在反应 Buffer 中额外添加终浓度 1 mM DTT 和 0.2 mg/ml BSA, 提高反应效率。
- 根据实验类型需要，调整 dNTP 的浓度 100~500 µM。
- 添加 Yeast Pyrophosphatase 可提高 DNA 产量。
- 反应引物 3' 端的硫代修饰可避免引物降解。

### 相关产品

AE0905: 无机焦磷酸酶 (酵母)

## 应用实例

### 1. 滚环复制

1) 按下表配制反应体系

反应组分	体积或浓度
10× Buffer	2
2mM dNTP	2
硫代修饰的 6N 随机引物	10-100p
模板：质粒或基因组 DNA	100ng-1μg
*phi29 DNA Polymerase (30U/μl)	1
H <sub>2</sub> O	Variable
总体积	20

2) 95 度加热 5min，放冰上 5min

3) 加入 phi29 DNA Polymerase ，

4) 30℃×60min 反应，

5) 75℃×15min 失活酶，

6) 按需进行后续实验。

\*先加热变性模板 DNA，并在冰上放 5min 退火，然后再加入 phi29 DNA Polymerase，进行滚环复制。

**警告：**本产品仅限科研实验使用，临床应用安全性和有效性未鉴定，不可用于医疗临床诊断。