

phi29 DNA Polymerase

产品套装编号: **A0202A**

产品内容	产品编号	包装规格
phi29 DNA Polymerase	A02020A	100 µl (10 U/µl)
10×phi29 Buffer	A02021A	1 ml

储存条件: -20°C 保存

■ 产品概述:

phi29 DNA聚合酶具有高效的DNA合成能力⁽¹⁾, 同时具有3'→5'外切酶校读功能⁽²⁾, 另外还具有特殊的链置换和连续合成特性⁽³⁾。

■ 来源:

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, 使用大肠杆菌表达和纯化phi29 DNA聚合酶。

■ 反应条件:

1×Buffer: 50 mM Tris-HCl (pH7.5 25°C)、10 mM MgCl₂、10 mM (NH₄)₂SO₄、4 mM DTT。

■ 活性单位:

30°C条件下, 10分钟内使0.5 pmol的dCMP掺入酸不溶性沉淀物所需要的酶量定义为1个活性单位。

■ 纯度:

以考马斯蓝染色SDS-PAGE检测纯度大于90%, 并无核酸内切酶、外切酶及RNase污染。

■ 储存条件:

100 mM KCl、10 mM Tris-HCl(pH 7.4)、0.1mM EDTA、1 mM DTT、0.5% Tween 20、0.5% NP-40和50%甘油, -20°C贮存。

■ 热失活:

65°C 10 分钟失活。

■ 应用:

1. 滚环复制⁽⁴⁾

1) 样品准备: 菌液或质粒

a. 菌液准备: 挑取琼脂板上的菌落 (尽量避免挑取到培养基) 移至10 µl 的ddH₂O中, 混匀。

b. 质粒准备: 扩增已纯化的环状质粒, 稀释至10 µg/ml。

2) 混合样品和其他反应物

反应物	浓度	体积
样品		1 μ l
10 \times phi29 Buffer		2 μ l
随机引物	100 pmol/ μ l	1 μ l
dNTP	10 pmol/ μ l	2.5 μ l
总体积		19 μ l

- 3) 90度变性3分钟，冰上冷却。
 - 4) 加入phi29 DNA Polymerase 1 μ l。
 - 5) 扩增反应：37 $^{\circ}$ C，反应16小时。
 - 6) 失活反应：65 $^{\circ}$ C，反应10分钟。
 - 7) 检测扩增效果：选用酶切位点唯一的内切酶进行酶解反应，再用琼脂糖凝胶电泳检测扩增效果。
2. DNA测序⁽⁵⁾
 3. 恒温protein-primed DNA扩增

■ 参考文献：

1. L. Blanco and M. Salas (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81, 5325-5329.
2. L. Blanco, A. Bernad, J. M. Lazaro, G. Martin, C. Garmendia and M. Salas (1989) *J. Biol. Chem.* 264, 8935-8940.
3. C. Garmendia, A. Bernad, J. A. Esteban, L. Blanco and M. Salas (1992) *J. Biol. Chem.* 267, 2594-2599.
4. P.M. Lizardi, X. Huang, Z. Zhu, P. Bray-Ward, D. C. Thomas and D. C. Ward (1998) *Nat. Genet.* 19, 225-232.
5. L. Blanco, A. Bernard and M. Salas (1996) U.S. Patent No. 5,576,204.

该产品仅限于实验科学研究用，若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途，本公司概不承担任何责任。



复能基因
FulengGen

地址:广州高新技术产业开发区广州科学城掬泉路3号广州国际企业孵化器D区8楼, 510663
 客服电话:020-32068595 电子信箱:support@fulengen.com 网址:www.fulengen.com