



Phi29 DNA 聚合酶 v2说明书

Phi29 DNA polymerase v2 Instructions

✉ info@ezassay.com

🌐 www.ezassay.com

深圳易致生物科技有限公司

目录编码: PHI-250
PHI-2500

目录 CONTENTS

内容	页码
产品信息	1
产品简介	1
产品内容	1
储存	1
应用示例	2
注意事项	3

产品信息

产品名称	Phi29 DNA聚合酶v2/ Phi29 DNA polymerase v2
表达系统	E.coli大肠杆菌
性质	重组蛋白
形式	液体
分子量	68kDa

产品简介

Product Introduction

Phi29 DNA聚合酶V2是在原始蛋白序列的基础上进行优化，增强了热稳定性，具有强大的链置换能力(Strand displacement)以及连续合成DNA的能力(Processive synthesis property)，特别适用于滚环扩增(Rolling Circle Amplification, RCA)和多重置换扩增 (Multiple Displacement Amplification, MDA)。

该酶有 3' →5' 核酸外切酶活性，无5' →3' 核酸外切酶活性，可保证扩增反应的高保真性，非常适用于高保真等温PCR，单细胞、病原微生物以及宏基因组(Metagenome)的全基因组扩增(Whole Genome Amplification, WGA)、干血斑样本扩增DNA、单细胞基因组扩增、SNP基因分型和STR微卫星分析等。

产品内容

Content of product

名称	Cat.#: PHI-250	Cat.#: PHI-2500
Phi29 DNA polymerase	10 U/μl *25 μl	50 U/μl *50 μl
10× Reaction Buffer	100 μl * 1 支	1 ml * 1 支
Enhancer Buffer	25 μl * 1 支	250 μl* 1 支
Diluent buffer	100 μl * 1 支	1 ml * 1 支

储存

Storage

本产品于-20℃保存。收到产品后，建议分装，避免反复冻融。

应用示例

Application example

以细菌(K.pne)基因组DNA为模板扩增

1.结合反应体系:

组份	用量
Nuclease-free Water	X μ l
10 \times Reaction Buffer	1 μ l
Enhancer Buffer	0.5 μ l
随机引物 (100 μ M)	1 μ l
模板DNA (4 ng)*	Y μ l
Total Volume	8 μ l

*模板投入量根据实验目的进行调整 (注意: Enhancer Buffer于冰上溶解, 用完请立即置于-20 $^{\circ}$ C冻存, 切勿长时间暴露于空气之中)

95 $^{\circ}$ C孵育3 min, 立即置于冰上冷却5 min。

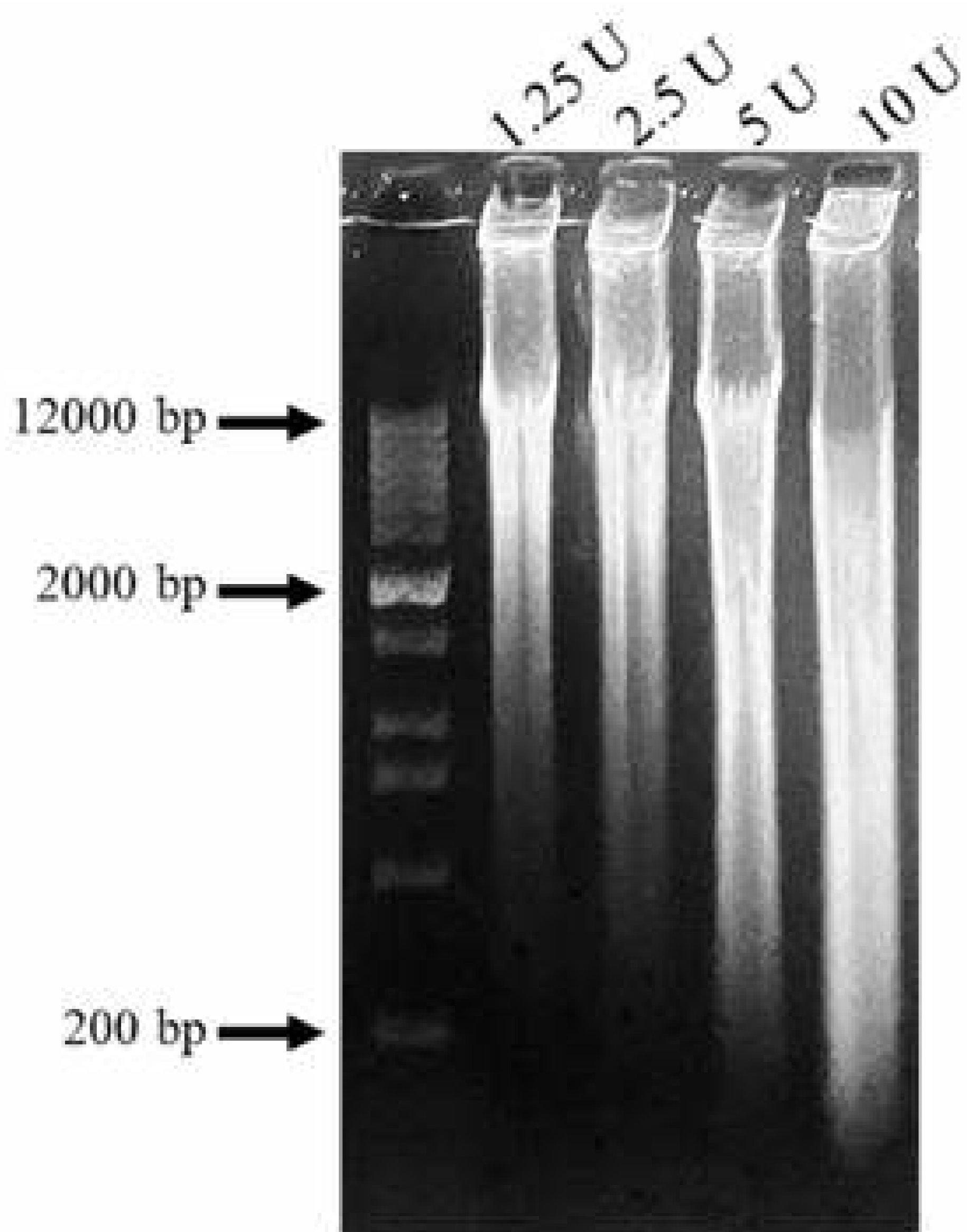
2.扩增反应体系:

组份	用量
上一步产物	8 μ l
dNTP (10 mM)**	1 μ l
Phi29 DNA Polymerase (5U/ μ l)***	1 μ l
Total Volume	10 μ l

** dNTP 的浓度优化范围 100~500 μ M;

***Phi29 DNA polymerase稀释后使用; 推荐用量为5 U/10 μ l 反应体系;优化范围: 1~10 U/10 μ l 反应体系。

振荡混匀并短暂离心收集, 30 $^{\circ}$ C孵育过夜。65 $^{\circ}$ C孵育10 min失活Phi29 DNA polymerase, 扩增产物经纯化后可用于测序及下游应用。



0.7% 琼脂糖DNA胶 (100 V, 40 分钟)

注意事项

Notes

- 1、对于需要变性的DNA样本，95°C孵育5分钟，然后4°C或冰浴2分钟。
- 2、对于全基因组扩增，可预先将Phi29 DNA polymerase, reaction buffer, ddH₂O与DNA样本混合，30°C孵育30分钟。利用Phi29 DNA polymerase的外切酶活性去除线性DNA。然后再加入随机引物和 dNTP，开始扩增反应。
- 3、推荐使用恒温水浴锅进行反应，如果使用热盖式PCR仪进行反应，请将热盖温度调整为40°C，以避免酶失活。
- 4、添加无机焦磷酸酶(Yeast Inorganic Pyrophosphatase) (货号：PPAS-0100)可进一步增强DNA的合成。