

phi29 DNA Polymerase

Code No. RR340A

包装量: 250 U
浓度: 10 U/ μ l

附带试剂

10X phi29 DNA Polymerase Reaction Buffer 250 μ l
dNTP Mixture 100 μ l

制品说明

phi29 DNA Polymerase 是一种来源于 *Bacillus subtilis* phage phi29 的 DNA 聚合酶。该酶在 30°C 时, 具有很强的链置换能力及 3' -5' 核酸外切酶校正活性, 可用于 RCA (Rolling Circle Amplification) 和 WGA (Whole Genome Amplification) 等。

贮存溶液

Tris-HCl (pH7.5 at 25°C)	10 mM
KCl	100 mM
EDTA pH7.5	0.1 mM
DTT	1 mM
Glycerol	50%
Tween 20	0.5%

保存: -20°C

起源

Escherichia coli carrying a plasmid containing the gene for phi29 DNA Polymerase.

性质

分子量: 约 67.7 kDa

活性定义

在 30°C、10 分钟内, 将 20 pmol 的 dNTP 掺入到酸性不溶物所需的酶量定义为 1 个活性单位 (U)。

热失活条件

65°C 10 分钟

活性测定反应液组成

50 mM	Tris-HCl (pH7.5 at 25°C)
10 mM	(NH ₄) ₂ SO ₄
20 mM	MgCl ₂
4 mM	DTT
0.1 mg/ml	BSA
各 200 μ M	dATP · dGTP · dCTP
100 μ M	dTTP
10 μ Ci	[³ H]-dTTP
0.25 mg/ml	activated salmon sperm DNA

质量控制

请参阅每批的 Certificates of Analysis (CoA)。产品 CoA 请在 Takara Bio Inc. 网站中下载:

https://catalog.takara-bio.com.jp/search/doc_index.php

用途

1. RCA (Rolling Circle Amplification)
2. WGA (Whole Genome Amplification)

使用注意

1. 酶不要剧烈搅拌。
2. 使用本制品时, 为了防止环境中的 DNA 造成污染, 建议用湿巾或水擦拭实验室的工作台和仪器, 并在干净的工作台上进行实验。
3. 如果将本酶放置在室温下, 酶的活性可能会降低。使用时请在冰上操作。

实验例

制备以下试剂:

试剂	浓度	使用量	终浓度
Nuclease-free water	—	x μ l	—
10X phi29 DNA Polymerase Reaction Buffer	10X	2 μ l	1X
3' PS-modified Random Hexamer ^{*1,2}	500 μ M	2 μ l	50 μ M
dNTP Mixture	各 10 mM	4 μ l	各 2 mM
DNA template ^{*3}	—	0.5 ng	25 pg/ μ l
Total		19 μ l	

↓
95°C 加热 5 分钟后, 在冰上冷却 2 分钟。

↓
加入 1 μ l^{*4} 的 phi29 DNA Polymerase (10 U/ μ l), 轻轻混匀。

↓
30°C 反应 2 小时^{*5}。

- *1 3' Phosphorothioate-modified Random Hexamer (Code No. 3807 可单独购买)
- *2 使用特异性引物时 (例如: 终浓度各 5 μ M), 建议使用 3' 末端进行修饰保护的引物, 以防止 phi29 DNA Polymerase 的 3' -5' 外切酶活性而导致引物降解。
- *3 可使用质粒 DNA、基因组 DNA、单链 DNA (ssDNA) 作为模板。推荐添加量如下:
 - 质粒 DNA : 50 pg ~ 5 ng/rxn
 - 基因组 DNA : 5 pg ~ 5 ng/rxn
 - ssDNA : 5 pg ~ 5 ng/rxn
- *4 增加使用量 (例如: 20 U) 可以获得更高的产量。
- *5 延长反应时间 (4~16 小时) 可能会获得更高的产量, 但在没有模板的样品中可能会出现非特异性扩增。

关联产品

3' Phosphorothioate-modified Random Hexamer (Code No. 3807)

注意

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。
未经 Takara Bio Inc. 书面许可授权或批准, 不得制造、许诺销售、销售、进口 Takara 产品, 或者使用 Takara 产品所有的相关专利及相关商标。
如果您需要其他用途的许可授权, 请联系我们, 或访问我们网站 www.takarabio.com。
您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。
所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日生物技术 (北京) 有限公司翻译制作, 最新版本文件请参考 Takara Bio Inc. 网站。为正确使用 Takara 产品, 您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v202412Da