Phi29 MAX DNA Polymerase

N106

Version 22.1

产品概述

Phi29 MAX DNA Polymerase是从*Bacillus subtilis*噬菌体phi29中克隆的DNA聚合酶。Phi29 MAX DNA Polymerase具有很强的链置换活性，可以实现对DNA复杂结构解链与复制，在体外进行不依赖于热循环的等温DNA聚合反应。Phi29 MAX DNA Polymerase具有很强的链亲合力，单次聚合反应可以实现长达100 kb的连续聚合延伸，另外，Phi29 MAX DNA Polymerase还具有很强的3' - 5'外切校对活性，其保真度是Taq酶的1000倍，高于目前绝大多数高保真酶的保真度，这保证了DNA合成的高保真性，非常适用于质粒的体外制备和全基因组合成。

产品组分

组 分	N106-01 (250 U)	N106-02 (1250 U)
Phi29 MAX DNA Polymerase	25 μl	125 μl
Phi29 MAX DNA Polymerase Reaction Buffer(10 ×)	1 ml	1 ml

▲反应缓冲液中含有DTT，反复冻融10次后请在使用前加入终浓度为4 mM的DTT。

保存条件

-30 ~ -15℃保存，如需长期储存请于-70℃以下存放，避免反复冻融；干冰运输。

适用范围

等温扩增。

来源

克隆来自*Bacillus subtilis*噬菌体phi29。

单位定义

1单位指30℃条件下反应10 min，能将0.5 pmol的dNTP掺入酸不溶性沉淀物所需要的酶量。

反应条件

1 × Phi29 MAX DNA Polymerase Reaction Buffer，30℃孵育。

自备材料

dNTP(10 mM)
随机引物
PCR仪或水浴锅

注意事项

本产品仅供科学研究使用，不得用于临床医学诊断及其他非合理用途。

实验流程

以环状质粒测序样本制备为例：

通过Phi29 MAX DNA Polymerase的链置换活性和高保真的复制，可以极大的简化用于测序的环状质粒的制备过程。

1. 样本准备

细菌培养液：取1 μl新鲜细菌培养物直接用于扩增反应。

平板上的菌落：挑取菌落(应避免取到培养基)到10 μl Nuclease-free ddH_2O中并混匀，取1 μl用于扩增反应。

已纯化的质粒：质粒用Nuclease-free ddH_2O稀释到1 ng/μl，取1 μl用于扩增反应。

2. 按下列顺序配制反应体系:

组 分	体积
Nuclease-free ddH_2O	4 μl
Phi29 MAX DNA Polymerase Reaction Buffer(10 ×)	1 μl
随机引物(100 μM)	2.5 μl
待扩增样品	1 μl
Total	8.5 μl

3. 95℃孵育3 min，立即置于冰上冷却5 min。

4. 在上述反应体系中加入下列组分：

组 分	体积
上一步产物	8.5 μl
dNTP(10 mM)	1 μl
Phi29 MAX DNA Polymerase	0.5 μl
Total	10 μl

5. 振荡混匀并短暂离心收集。

6. 30℃孵育过夜。

7. 65℃孵育10 min失活Phi29 MAX DNA Polymerase。

8. 扩增产物经纯化后可用于测序及下游应用。