

Phi29 MAX DNA Polymerase

N106-01/02

Version 10.1



Vazyme biotech co., Ltd.

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具有很强的链亲和力，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 μ l	125 μ l
Phi29 MAX DNA Polymerase Reaction Buffer(10 \times)	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 $^{\circ}$ C保存，如需长期储存请于-70 $^{\circ}$ C以下存放，避免反复冻融；干冰运输。

适用范围

等温扩增。

单位定义

1单位指30 $^{\circ}$ C条件下反应10 min，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 \times Phi29 MAX DNA Polymerase Reaction Buffer, 30 $^{\circ}$ C孵育。

质量控制

蛋白纯度检测：通过SDS-PAGE考马斯亮蓝染色，Phi29 MAX DNA Polymerase蛋白纯度大于95%。

内切酶活性检测：在50 μ l反应体系中，100 U Phi29 MAX DNA Polymerase与1 μ g lambda DNA于37 $^{\circ}$ C温育4 h，经琼脂糖凝胶电泳，DNA条带不发生变化。

自备材料

dNTP(10 mM)

随机引物

PCR仪或水浴锅

使用方案

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聚合活性，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 μ l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 μ l Nuclease-free ddH₂O中并混匀，取1 μ l用于扩增反应。

已纯化的质粒：质粒用Nuclease-free ddH₂O稀释到1 ng/ μ l，取1 μ l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 ₂ O	4 μ l
Phi29 MAX DNA Polymerase Reaction Buffer(10 \times)	1 μ l
随机引物(100 μ M)	2.5 μ l
待扩增样品	1 μ l
Total	8.5 μ l

3. 95 $^{\circ}$ C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成分：

组分	体积
上一步产物	8.5 μ l
dNTP(10 mM)	1 μ l
Phi29 MAX DNA Polymerase	0.5 μ l
Total	10 μ l

5. 震荡混匀并短暂离心收集。

6. 30 $^{\circ}$ C孵育过夜。

7. 65 $^{\circ}$ C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其他下游应用。



ISO 9001: 2015