

产品概述

phi29 DNA Polymerase 是源自枯草芽孢杆菌噬菌体 phi29 的复制型 DNA 聚合酶，由携带 phi29 DNA 聚合酶基因的重组大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 工程菌株表达纯化所得。该酶具备极强的链置换活性与极高的持续合成能力，单次结合延伸即可合成超过 70 kb 的长片段 DNA。其固有的 3' → 5' 核酸外切酶（校对）活性赋予其卓越的复制保真度，可在无需使用热循环仪（PCR 仪）的等温条件下实现高效 DNA 扩增，适用于体外质粒制备、全基因组扩增、滚环扩增、SNP（单核苷酸多态性）检测等多种分子生物学应用场景。

试剂组成

组分	BR3P104-54 (500 U)	BR3P104-56 (1000 U)
10×phi29 Buffer	125 μL	250 μL
phi29 DNA Polymerase	50 μL	100 μL

保存条件

-20±5℃ 存储。

注意事项

1. 本产品仅用作科研用途。
2. 模板完整度将影响扩增效果。
3. phi29 DNA Polymerase 具有超强的 3' → 5' 外切活性，扩增时请使用抗外切酶引物，如硫代磷酸酯修饰引物。
4. 反应缓冲液中含有 DTT，若储存时间过久，会造成反应性能下降，此时可在使用前加入终浓度为 4 mM 的 DTT。

使用方法

1. 以全基因组扩增为例：

1.1 将各组分试剂在室温或冰面上解冻后混匀，瞬时离心。按照表 1 配置反应液：

表 1. phi29 反应体系

组分名称	体积 (μL)	备注
基因组 DNA	X	0.1~10 ng
随机引物 (100 μM)	25	10~50 μM
10×phi29 Buffer	5	1×
25 mM dNTP	2	1 mM
ddH ₂ O	Up to 50	/

1.2 轻弹管壁混匀，瞬时离心，95℃ 孵育 3 min，迅速置于冰浴中，冷却 2 min。

1.3 向上述体系中加入 2 μL **phi29 DNA Polymerase**，轻弹管壁混匀，瞬时离心。

1.4 恒温 30℃ 孵育 2~8 h。

1.5 65℃ 孵育 10 min 失活 phi29 DNA Polymerase。