

产品组分

组分名称	组分编号	规格-1	规格-2
		250 U	1250 U
Pilot phi29 DNA Polymerase (10,000 U/mL)	RM20573	25 μ L	125 μ L
10X phi29 DNA Polymerase Reaction Buffer V2	RM20840	1.25 mL	1.25 mL

产品说明

Pilot phi29 DNA Polymerase 区别于 Phi29 DNA Polymerase，其在保留后者所有优点的同时，在蛋白质热稳定性、反应速度和耐盐性等方面的能力均显著提高。Pilot phi29 DNA Polymerase 具有很强的多重链置换，连续合成特性和 3'-5'核酸外切酶活性。

产品来源

基因工程改造phi29 DNA Polymerase，在 *E. coli* 中重组表达并经多步纯化精制而成。

应用场景

滚环扩增 (Rolling circle amplification, RCA)

全基因组扩增 (Whole genome amplification, WGA)，如来自单细胞，未培养的微生物细胞和病毒颗粒的DNA；宏基因组；用于SNP和STR检测的基因组DNA

高保真DNA合成

酶活定义

1 活性单位 (U) 是指在 30°C 10 min 内，将 0.5 pmol 的 dNTPs 变成不溶于酸的物质时所需的酶量。

酶存储液

10 mM Tris-HCl, 100 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 0.5% Tween-20, 0.5% NP-40, 50% Glycerol, pH 7.5 @ 25°C

保存温度

-20°C

反应条件

1X phi29 DNA Polymerase Reaction Buffer V2, 30-42°C 反应，最佳温度需依据不同应用场景进行调整；

热失活

65°C 加热 10 min

操作说明

1. MDA-WGA 场景

1.1 在冰上配制如下反应体系 (以 50 μ L 反应体系为例)：

试剂	反应体系	最终浓度
Exonuclease-Resistant Random Primers (500 μ M)	3 μ L	30 μ M
DNA Sample(线性 DNA)	Variable	1pg-1ng
dNTP Mix (25 mM)	2 μ L	1 mM
10X phi29 DNA Polymerase Reaction Buffer V2	5 μ L	1X
Nuclease-free Water	up to 49 μ L	/

1.2 混匀并瞬时离心后，95°C 反应 3 min。

1.3 快速置于冰上冷却至 2-8°C。

- 1.4 向上述体系中加入 1 μ L Pilot phi29 DNA Polymerase。
- 1.5 混匀，瞬时离心后，在 PCR 仪中孵育，盖子设置为 $\geq 75^{\circ}\text{C}$ ，在 42°C 反应下孵育 2h*。
- 1.6 反应完成后， 65°C 热失活 10 min。

*注：具体反应最佳温度，需依据不同应用场景进行调整，调整范围 $30-42^{\circ}\text{C}$ 。

2. RCA 场景

2.1 在冰上配制如下反应体系（以 50 μ L 反应体系为例）：

试剂	反应体系	最终浓度
Exonuclease-Resistant Random Primers (500 μ M)	3 μ L	30 μ M
DNA Sample (环状 DNA)	Variable	1fg-1ng
dNTP Mix (25 mM)	2 μ L	1 mM
10X phi29 DNA Polymerase Reaction Buffer V2	5 μ L	1X
Nuclease-free Water	up to 49 μ L	/

- 2.2 混匀并瞬时离心后， 95°C 反应 3 min。
- 2.3 快速置于冰上冷却至 $2-8^{\circ}\text{C}$ 。
- 2.4 向上述体系中加入 1 μ L Pilot phi29 DNA Polymerase。
- 2.5 混匀，瞬时离心后，在 PCR 仪中孵育，盖子设置为 $\geq 75^{\circ}\text{C}$ ，在 42°C 反应下孵育 2h*。
- 2.6 反应完成后， 65°C 热失活 10 min。

*注：具体反应最佳温度，需依据不同应用场景进行调整 $30-42^{\circ}\text{C}$ 。