

公司产品仅供科学研究使用、不得用于临床诊断！

商品属性：

产品名称	规格	货号
Equi-phi29 DNA Polymerase	1000U	A-PJ1053
Equi-phi29 DNA Polymerase	10KU	A-PJ1053

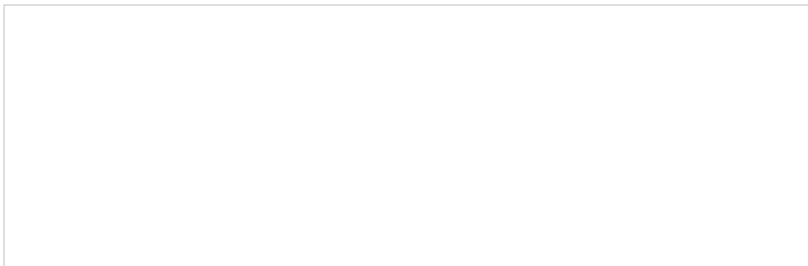
描述：

Equi-phi29 DNA Polymerase 是 phi29 的改造体，并经多次纯化分离而得。在保留了 phi29 DNA 聚合酶的链置换、连续合成特性 (>70kb) 的基础上，提高了滚环扩增的反应温度，该酶可以在 42 度条件下持续的进行 DNA 合成（而 phi29 DNA 聚合酶在此温度下反应活性很低）。

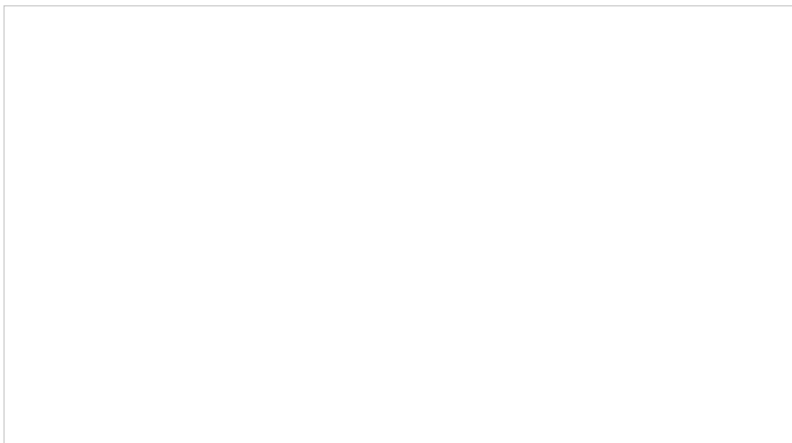
这种高温的反应特性，在以下几个方面对实验有明显的提升：

- (1) 在 NGS 测序中，其提升了高 GC 含量、回文结构等复杂模板的延伸能力，使得 NGS 的覆盖度更均一，降低测序所需深度；
- (2) 高温的反应条件，提升了基因组 DNA 的 WGA 产物的合成量，并可以进行变温扩增；
- (3) 降低测序中 Gap 区域，提升单细胞测序的数据质量和完整性；
- (4) 降低非特异性扩增产物；
- (5) 提升 MDA/RCA 等实验的扩增性能和特异性。

除此外，该酶仍然具有很强的 3'→5' 外切酶校读功能，合成的 DNA 片段保真性高。该酶的外切酶活性较强，因此合成过程中引物需要 3' 端硫代修饰，以降低外切活性对引物的切割效应。



储存：-20°C 可保存 3 年。



注意：在不同的实验类型中，Oligo 根据实验需要自行选择。

2. 引物和模板退火：体系配制完毕后，放置到 PCR 仪中，95°C 3min，25°C 3min。3. 退火完毕后，向退火产物中加入 1μl Equi-phi29

DNAPolymerase, 混合均匀。

4. 扩增反应

4.1 恒温扩增

对于环状DNA模板采用恒温反应作为推荐使用30°C恒温扩增, 30°C孵育 6~16h.该酶在 30-42°C条件下均可工作, 必要时根据实验类型进行调整。

4.2 变温扩增

对于基因组 DNA 或 cDNA 模板, 推荐使用变温扩增反应, 以在短时间内获得更高产量, 并提高了低浓度模板的扩增产量。在 PCR 仪上做如下设置:

【30°C 5min; 42°C 15s】循环 72 次 (约 6h) 或 120次 (约 10h) .必要时, 反应结束后, 可于 65°C 10min 进行失活反应。

使用注意事项

- (1) 必要时可单独额外添加终浓度 1 mM DTT 和 0.2mg/ml BSA, 可提高反应效率。
- (2) 该酶的最佳反应温度为 42 °C (在 30~42°C之间均有活性)。
- (3) 65°C 10min 即可使该酶失活。
- (4) 根据实验类型需要, 调整dNTP的浓度100~500 μ M。
- (5) 添加 Yeast Pyrophosphatase可提高 DNA 产量。
- (6) 反应引物 3'端的硫代修饰可避免引物降解。