

## phi29 2.0 DNA 聚合酶说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

### 描述：

phi29 2.0 DNA 聚合酶是 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，phi29 2.0 DNA 聚合酶可以在 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 WGA 产物的合成量（2-5 倍），并缩短扩增时间（1~2h 完成建库扩增）；
- (3) 降低测序中 Gap 区域，提升单细胞测序的数据质量和完整度；
- (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。

### 组分

名称	500U	10KU
phi29 2.0 DNA Polymerase (10 U/μl)	50 μl	1ml
10×phi29 Buffer	1 ml	1 mlx10

储存：-20℃可保存 3 年。

### 使用注意事项

- (1) 1×phi29 Buffer: 50 mM Tris-HCl pH 7.5, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 4 mM DTT。必要时可单独额外添加终浓度 1 mM DTT 和 0.2 mg/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。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 μM。
- (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。