

phi29 DNA Polymerase

Code No. RR340A **Size:** **250 U**
Conc.: **10 U/ μ l**

Supplied Reagents:

10X phi29 DNA Polymerase Reaction Buffer **250 μ l**
dNTP Mixture **100 μ l**

Description:

phi29 DNA Polymerase is a DNA polymerase derived from a *Bacillus subtilis* phage phi29. This polymerase has strong strand displacement and 3'-5' exonuclease activities, enabling high fidelity isothermal amplification at 30°C. This product can be used for applications such as RCA (Rolling Circle Amplification) and WGA (Whole Genome Amplification).

Storage Buffer:

10 mM	Tris-HCl (pH 7.5 at 25°C)
100 mM	KCl
0.1 mM	EDTA pH 7.5
1 mM	DTT
50%	Glycerol
0.5%	Tween 20

Storage: -20°C

Source:

Escherichia coli carrying a plasmid containing the gene for phi29 DNA Polymerase

Property:

Molecular mass : approx. 67.7 kDa

Unit Definition:

One unit is defined as the amount of enzyme required to incorporate 20 pmol of dNTP's into acid insoluble material in 10 minutes at 30°C.

Heat Inactivation:

65°C for 10 minutes

Reaction Mixture for Unit Definition:

50 mM	Tris-HCl (pH 7.5 at 25°C)
10 mM	(NH ₄) ₂ SO ₄
20 mM	MgCl ₂
4 mM	DTT
0.1 mg/ml	BSA
200 μ M each	dATP, dGTP, and dCTP
100 μ M	dTTP
10 μ Ci	[³ H]-dTTP
0.25 mg/ml	Activated salmon sperm DNA

Quality Control Data:

Please see the Certificate of Analysis (CoA) for each lot. You can download the CoA on Takara Bio website.

Applications:

1. RCA (Rolling Circle Amplification)
2. WGA (Whole Genome Amplification)

Precautions for Use:

1. Do not mix the enzyme vigorously.
2. Set up reactions in a DNA-free environment to avoid contamination. It is recommended to wipe the lab bench and instruments with wet wipes and to conduct the experiment in a clean bench.
3. Do not leave this polymerase at room temperature, as it could cause inactivation. Keep this polymerase on ice during the experiment.

Application Example:

Prepare reaction mixture.

Components	Conc.	Volume	Final conc.
Nuclease-free water	—	x μ l	—
10X phi29 DNA Polymerase Reaction Buffer	10X	2 μ l	1X
3' PS-modified Random Hexamer* ^{1,2}	500 μ M	2 μ l	50 μ M
dNTP Mixture	10 mM each	4 μ l	2 mM each
DNA template* ³	—	0.5 ng	25 pg/ μ l
Total		19 μ l	

↓
Incubate at 95°C for 5 minutes, then place on ice.

↓
Add 1 μ l*⁴ of phi29 DNA Polymerase and mix gently.

↓
Incubate at 30°C for 2 hours.*⁵

- *1 Component of 3' Phosphorothioate-modified Random Hexamer (Cat. #3807: sold separately).
- *2 If specific primers are used for amplification (e.g., 5 μ M each in final concentration), it is also highly recommended that the 3' ends of the primers be modified with phosphothioate to prevent digestion by phi29 DNA polymerase's 3'-5' exonuclease activity.
- *3 Plasmid DNA, genomic DNA, and single-stranded DNA (ssDNA) can be used as templates, and their recommended concentrations are as follows.

Plasmid DNA	: 50 pg - 5 ng/rxn
Genomic DNA	: 5 pg - 5 ng/rxn
ssDNA	: 5 pg - 5 ng/rxn

- *4 The use of 20 U of phi29 DNA Polymerase may increase DNA yield.
- *5 Prolonged incubation (4 - 16 hours) may increase DNA yield. Note that DNA amplification may occur even without a template.

Related Products:

3' Phosphorothioate-modified Random Hexamer (Cat. #3807)

Note

This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc. Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from Takara Bio Inc.

If you require licenses for other use, please contact us from our website at www.takarabio.com.

Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements.

All trademarks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

phi29 DNA Polymerase

Code No. RR340A 容量： 250 U
濃度： 10 U/ μ l

添付試薬：
10×phi29 DNA Polymerase Reaction Buffer 250 μ l
dNTP Mixture 100 μ l

●製品説明

phi29 DNA Polymerase は *Bacillus subtilis* phage phi29 を由来とする DNA ポリメラーゼである。本酵素は 30°C 付近で活性を示し、高い鎖置換活性による等温増幅と 3'-5' エキソヌクレアーゼ活性による高い正確性が特徴であり、RCA (Rolling Circle Amplification) 法や WGA (Whole Genome Amplification) などに使用できる。

●形状

10 mM	Tris-HCl (pH7.5 at 25°C)
100 mM	KCl
0.1 mM	EDTA pH7.5
1 mM	DTT
50%	Glycerol
0.5%	Tween 20

●保存 - 20°C

●起源

Escherichia coli carrying a plasmid containing the gene for phi29 DNA Polymerase

●一般的性質

質量： 約 67.7 kDa

●活性の定義

30°C において 10 分間に 20 pmol の dNTP を酸不溶性沈殿物に取り込む酵素量を 1 U とする。

●熱失活条件

65°C 10 分間

●活性測定用反応液組成

50 mM	Tris-HCl (pH7.5 at 25°C)
10 mM	(NH ₄) ₂ SO ₄
20 mM	MgCl ₂
4 mM	DTT
0.1 mg/ml	BSA
各 200 μ M	dATP・dGTP・dCTP
100 μ M	dTTP
10 μ Ci	[³ H]-dTTP
0.25 mg/ml	活性化サケ精子 DNA

●品質管理データ

性能試験結果については、各ロットの Certificate of Analysis (CoA) をご覧ください。CoA はタカラバイオウェブサイトからダウンロードできます。

●用途

1. RCA (Rolling Circle Amplification)
2. WGA (Whole Genome Amplification)

●使用上の注意

1. 本酵素の激しい攪拌は行わないでください。
2. 本製品を使用する際は、DNA 汚染によるコンタミを防止するために実験台や実験器具を水拭きし、クリーンベンチ内で作業することをお勧めします。
3. 本酵素を室温で放置すると酵素活性が低下する場合があります。使用する際は氷上において使用してください。

●使用例

以下の試薬を調製する。

試薬	濃度	使用量	最終濃度
Nuclease-free water	—	x μ l	—
10×phi29 DNA Polymerase Reaction Buffer	10×	2 μ l	1×
3' PS-modified Random Hexamer *1,2	500 μ M	2 μ l	50 μ M
dNTP Mixture	各 10 mM	4 μ l	各 2 mM
DNA template *3	—	0.5 ng	25 pg/ μ l
Total		19 μ l	

↓
95°C で 5 分間加熱後、氷上で 2 分間冷却する。

↓

10 U/ μ l の phi29 DNA Polymerase を 1 μ l *4 添加し、優しく混合する。

↓

30°C で 2 時間*5 反応させる。

- *1 : 3' Phosphorothioate-modified Random Hexamer (製品コード 3807: 別売り) のコンポーネント。
- *2 : 特異的プライマーを使用する場合 (例 : 最終濃度 各 5 μ M) は、phi29 DNA polymerase の 3'-5' エキソヌクレアーゼ活性によるプライマーの分解を防ぐために 3' 末端が保護修飾されたプライマーを高く推奨する。
- *3 : プラスミド DNA、ゲノム DNA、一本鎖 DNA を鋳型として使用可能。それぞれの推奨濃度は以下のとおりである。

プラスミド DNA : 50 pg ~ 5 ng/rxn

ゲノム DNA : 5 pg ~ 5 ng/rxn

一本鎖 DNA : 5 pg ~ 5 ng/rxn

- *4 : 使用量を上げる (例 : 20 U) ことで、より高収量が得られる場合がある。
- *5 : 反応時間を延長する (4 ~ 16 時間) ことで、より高収量が得られる場合があるが、鋳型を添加しないサンプルにおいても非特異的増幅が起こる可能性がある。

●関連製品

3' Phosphorothioate-modified Random Hexamer (製品コード 3807)

●注意

本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。本データシートに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。