



MagniPhi® BIOTECH

www.xpolbiotech.com

Enzima: **DNA polimerasa ϕ 29** *

Cantidad: **500 unidades / 5 μ g (50 μ l)**

No. Catálogo: **XP0910101**

2000 unidades / 20 μ g (200 μ l)

No. Catálogo: **XP0910201**

Concentración: 10 U/ μ l (0.1 μ g/ μ l)

Peso Molecular: 66 kDa

Origen: células de *E. coli* portadoras del gen 2 del fago ϕ 29 de *Bacillus subtilis*

Condiciones de almacenamiento: -20°C

* *Sólo para uso en investigación*

MATERIALES

CANTIDAD

MagniPhi® DNA polimerasa ϕ 29 (10 U/ μ l)

500 unidades / 2000 unidades

Mezcla de Reacción 10X

1 ml

DNA ϕ 29 digerido con *Hind*III (250 ng/ μ l)

20 μ l (10 reacciones control)

X-POL BIOTECH S.L. C/ Santiago Grisolia 2-PCM. Tres Cantos. Madrid-España. +34 91 804 67 39

Características

- Gran capacidad para acoplar la síntesis de DNA al desplazamiento de la banda que no está siendo copiada (1)
- Elevada procesividad (>70 kb sin disociarse del DNA molde) (1)
- Alta fidelidad (debido a su baja tasa de inserción de errores -1 por cada 10^6 - 10^7 nucleótidos- y a su actividad exonucleasa 3'-5' con capacidad correctora de errores) (2, 3)
- Elevado rendimiento de DNA amplificado que puede ser utilizado directamente para aplicaciones posteriores (4,5)

Aplicaciones *

- Síntesis procesiva de DNA acoplada al desplazamiento de banda (1)
- *Rolling-Circle Amplification* (RCA) (4)
- *Multiple-Displacement Amplification* (MDA) de genomas lineales (5)

Definición de Unidad de Actividad

- Una unidad de enzima cataliza la incorporación de 1.1 pmol de dAMP en el DNA de ϕ 29 digerido con *Hind*III en 10 minutos a 30°C.

Condiciones de ensayo: 50 mM Tris-HCl (pH 7.5), 1 mM DTT, 10 mM MgCl₂, 500 ng DNA de ϕ 29 digerido con *Hind*III, 0.2 μ M dATP (incluirl 2 μ Ci [α -³²P] dATP), 200 μ M dGTP, 200 μ M dCTP y 200 μ M dTTP. Ver **Control de actividad** para más detalles.

Mezcla de almacenamiento

- El enzima es suministrado en: 25 mM Tris-HCl (pH 7.5), 200 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM DTT, 0.15% (v/v) Tween 20, 10 mM sulfato amónico y 50% (v/v) glicerol.

Mezcla de reacción 10X

- 500 mM Tris-HCl (pH 7.5), 100 mM MgCl₂, 10 mM DTT y 500 mM KCl.

Inactivación

- 10 minutos a 65°C.

Control de calidad

- MagniPhi® DNA polimerasa ϕ 29 carece de actividad endonucleasa tanto sobre DNA de cadena sencilla (DNA circular covalentemente cerrado de M13mp18) como sobre DNA de cadena doble (RF-1 del DNA de ϕ X174) tras una incubación de 4 horas a 30°C.

- MagniPhi® DNA polimerasa ϕ 29 es capaz de replicar el DNA de cadena sencilla de M13 hibridado al *primer* universal de manera procesiva (>70 kb) y acoplada al desplazamiento de banda sin la ayuda de proteínas accesorias (1)

Control de actividad

- Marcaje de los extremos del DNA de ϕ 29 digerido con *Hind*III:

Condiciones de ensayo: en un volumen de 25 μ l, cada reacción contiene 50 mM Tris-HCl (pH 7.5), 10 mM MgCl₂, 1 mM DTT, 500 ng DNA de ϕ 29 digerido con *Hind*III, 1 U (10 ng) MagniPhi® DNA polimerasa ϕ 29, 0.2 μ M dATP (incluirl 2 μ Ci [α -³²P] dATP), 200 μ M dGTP, 200 μ M dCTP y 200 μ M dTTP. Tras una incubación de 10 minutos a 30°C, la incorporación total de nucleótido puede ser cuantificada a partir de la radiación Cerenkov tras filtración en columnas de Sephadex G-50 (1). Los productos marcados pueden ser detectados mediante electroforesis en gel de agarosa (0.7-1%) y posterior autorradiografía.

Notas

- * Algunas aplicaciones en las que esta enzima sería utilizable podrían requerir la concesión de una licencia. Para más información visite www.xpolbiotech.com

Referencias

1. Blanco et al. (1989). Highly efficient DNA synthesis by the ϕ 29 DNA polymerase. Symmetrical mode of DNA replication. *J. Biol. Chem.*, **264**, 8935-8940.
2. Esteban et al. (1993). Fidelity of ϕ 29 DNA polymerase. Comparison between protein-primed initiation and DNA polymerization. *J. Biol. Chem.*, **268**, 2719-2726.
3. Garmendia et al. (1992). The bacteriophage ϕ 29 DNA polymerase, a proofreading enzyme. *J. Biol. Chem.*, **267**, 2594-2599.
4. Dean et al. (2001). Rapid amplification of plasmid and phage DNA using ϕ 29 DNA polymerase and multiply-primed rolling-circle amplification. *Genome Res.*, **11**, 1095-1099.
5. Dean et al. (2002). Comprehensive human genome amplification using multiple displacement amplification. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **99**, 5261-5266.

Diciembre.2009