Version：AF 4.0（2025.06.19 修订）

Spark Phi29 DNA Polymerase

（10 U/μL）

目录号：AF1201、AF1202

01/产品组分

序号	组分	AF1201-A 125 U	AF1201-B 125 U×5	AF1202-A 125 U	AF1202-B 125 U×5
1	Spark Phi29 DNA Polymerase	12.5 μL	12.5 μL×5	12.5 μL	12.5 μL×5
2	10×Phi29 Buffer	1 mL	1 mL×5	1 mL	1 mL×5
3	100×BSA	200 μL	200 μL×5	200 μL	200 μL×5
4	dNTP（10 mM each）	200 μL	200 μL×5	-	-

02/保存条件

本产品所有组分-20℃保存。

03/产品概述

Spark Phi29 DNA 聚合酶是由蛋白质工程改造的 Phi29 DNA 聚合酶，在大肠杆菌中进行表达后，经多次纯化分离获得。与野生型 Phi29 DNA 聚合酶相比，具有更高的扩增效率和灵敏度，能极大缩短反应时间。Spark Phi29 DNA 聚合酶具有特殊的链置换活性和高效的连续合成特性，对模板有很强的结合能力，可连续合成多达 70 kb 的 DNA 片段而不从模板上解离。同时该酶具有很强的 3'—5' 外切酶校正功能，保真性比 Taq DNA 聚合酶高 100 倍。

04/活性单位

30℃条件下，10 min 内能使 0.5 pmol 的 dNTPs 掺入酸不溶性物所需要的酶量定义为 1 个活性单位。

05/质量控制

经多次柱纯化，SDS-PAGE 胶检测仅可见清晰单一目的条带，PCR 方法检测无大肠杆菌 DNA 残留，无核酸内、外切酶污染。

06/适用范围

恒温 protein-primed DNA 扩增，利用随机引物扩增 DNA，滚环复制，复制 extended-region。

07/实验流程

操作在冰上进行，各组分解冻后请充分混匀后使用，用完后请及时放回-20℃保存。

Components	Volume
10×Phi29 Buffer	5 μL
随机引物（1 mM）	1.25 μL
质粒模板（5-10 ng/μL)	5 μL
加 ddH_2O 至 45 μL，95℃预变性 5 min，立即冰浴 5 min	
dNTP（10 mM each）	2.5 μL
100×BSA	1.25 μL
Spark Phi29 DNA Polymerase	2.5 μL
30℃反应 3 h	

热失活：65℃，10 min。

▲模板添加量可根据实际情况进行调整，最低添加量为≥5 ng。

08/结果检测

反应结束后在适合浓度的琼脂糖凝胶上进行电泳检测。

09/注意事项

◇ 本制品灵敏度极高，注意防止模板污染。

◇ Spark Phi29 DNA 聚合酶具有极强的 3'—5'外切酶活性，能够降解引物，扩增反应中应使用经过硫代修饰的随机引物。

10/相关产品

AF0102　2×Spark Taq PCR Master Mix（with dye）

AF0802　2×SparkHiFi Max Master Mix（with dye）

AF1402　SuperPure dNTP Mixture（10 mM each）

AJ0101　Spark 2000 DNA Marker

AJ0210　Sparkred

AC1709　RNase Free and DNase Free 纯水