

FastCut Dpnl

产品编号	产品名称	包装规格
NBS8156	FastCut Dpnl	50 rxns

产品简介:

FastCut 快速内切酶是一系列经过基因工程重组的快速限制性内切酶，适用于质粒 DNA、PCR 产物或基因组 DNA 等的快速酶切。所有 FastCut 快速内切酶在通用的 FastCut 或 FastCut Color Buffer 中都具有优良的活性，能够在 5~15 分钟内完成酶切。此外去磷酸化、连接试剂在 FastCut Buffer 中均具有 100% 活性，支持一管化反应，提升“酶切 - 修饰 - 连接”的体验。

FastCut Color Buffer 包括红色和黄色示踪染料，可将产物直接用于凝胶电泳。FastCut Color Buffer 的红色染料与 2500 bp 双链 DNA 片段在 1% 琼脂糖凝胶中迁移速率接近；黄色染料与 10 bp 双链 DNA 片段在 1% 琼脂糖凝胶中迁移速率接近。

识别位点:

GA^{m6}TC

5'...G A^{m6} ↓ T C...3'

3'...C T ↑ A^{m6} G...5'

同裂酶: MslI

异裂酶: Bsp143I, BssMI, BstKTI, BstMBI, DpnII, Kzo9I, MboI, NdeI, Sau3AI

注: 同裂酶对于不同的甲基化修饰可能具有不同敏感性。

产品组成:

组分	规格
FastCut Dpnl	50 μl
10× FastCut Buffer	1 ml
10× FastCut Color Buffer	1 ml

保存条件:

-20°C保存, 2 年有效。

建议反应条件:

1× FastCut 缓冲液;

37°C温育;

参照“DNA 快速酶切流程” 配制反应体系。

失活条件:

80°C温育 20 min。

功能活性检测:

37°C下, 在 20 μl 通用 FastCut 反应体系中, 1 μl FastCut DpnI 能够在 15 min 内完全消化 1 μg pUC19 DNA。

超长时间温育检测:

37°C下, 在 20 μl 通用 FastCut 反应体系中, 将 1 μl FastCut DpnI 与 1 μg pUC19 DNA 共同温育 3 h, 未检测到其他核酸酶污染或星号活性引起的底物非特异性降解。更长时间酶切可能出现星号活性。

非特异性内切酶活性检测:

37°C下, 在 20 μl 通用 FastCut 反应体系中将 1 μl FastCut DpnI 与 1 μg 超螺旋质粒 DNA 共同温育 4 h 后, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 少于 10%的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

使用方法:**1. DNA 快速酶切流程**

① 在冰上按如下建议的加样顺序配制反应体系:

	质粒 DNA	PCR 产物	基因组 DNA
ddH ₂ O	15μl	16μl	30μl
10× FastCut Buffer 或 10×	2μl	3μl ^a	5μl

FastCut Color Buffer

底物 DNA	2 μ l (up to 1 μ g)	10 μ l (~0.2 μ g)	10 μ l (5 μ g)
FastCut Dpnl	1 μ l	1 μ l	5 μ l
Total	20 μ l	30 μ l	50 μ l

a.本体系适用于经过纯化的 PCR 产物酶切。未纯化的 PCR 产物具备一定的离子强度，10 \times FastCut Buffer 加入量可适当减少至 2 μ l。但由于 DNA 聚合酶同时具有外切酶活性，会影响酶切产物，因此如下一步需进行克隆等操作，建议酶切前对 PCR 产物进行纯化。

- ② 轻柔吸打或轻弹管壁以混匀（切勿涡旋），然后瞬时离心以收集挂壁液滴；
- ③ 37 $^{\circ}$ C 温育 15 min（质粒），或 15~30 min（PCR 产物），或 30~60 min（基因组 DNA）；
- ④ 80 $^{\circ}$ C 温育 20 min 即可使酶失活，停止反应（可选）；
- ⑤ 如果使用 FastCut Color Buffer 进行酶切反应，得到的产物可以直接进行上样电泳。

2. 双酶切或多酶切

- ① 每种快速内切酶的用量为 1 μ l，并根据需要适当扩大反应体系；
- ② 所有快速内切酶的体积总和不得超过总反应体系的 1/10；
- ③ 如果所用的几种快速内切酶的最适反应温度不同，应先以最适温度低的酶开始酶切，再添加最适温度较高的酶，在其最适反应温度下进行酶切反应。

3. 适用于质粒的扩大反应体系

DNA	1 μ g	2 μ g	3 μ g	4 μ g	5 μ g
FastCut Dpnl	1 μ l	2 μ l	3 μ l	4 μ l	5 μ l
10 \times FastCut Buffer 或 10 \times FastCut Color Buffer	2 μ l	2 μ l	3 μ l	4 μ l	5 μ l
Total	20 μ l	20 μ l	30 μ l	40 μ l	50 μ l

注：如果总反应体系大于 20 μ l，应适当增加温育时间，尽量使用水浴、金属浴或沙浴。

不同 DNA 中的酶切位点数量

λ DNA	Φ X174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
116	0	22	15	15	8	7	87

甲基化修饰影响

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
无影响	无影响	剪切受影响	无影响	剪切受影响

在不同反应缓冲液中的活性

	FastCut Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB rCutSmart™ Buffer	Takara QuickCut™ Buffer
活性	100%	100%	100%	100%

注：活性数据来自限制酶标准反应体系下的检测。

注意事项：

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其它用途！