

FastCut HpaII 快速限制性内切酶

FastCut HpaII Restriction Endonucleases

使用说明书

版本号：241220

目录号：CE550

产品组成及规格：

组分编号	组分名称	CE550-01(200T)
CE550-1	FastCut HpaII	200 μ L
CE550-2	10 \times FastCut Buffer	2 \times 1mL
CE550-3	10 \times FastCut Color Buffer	2 \times 1mL

产品储存： -20 $^{\circ}$ C运输和保存，保质期 2 年。

产品介绍： 本产品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。所有快速内切酶在通用的 FastCut Buffer 中都具有优良的活性，能够在 5-15 分钟内完成酶切。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。Color Buffer 的红色染料与 2500bp 双链 DNA 片段在 1%琼脂糖凝胶中迁移速率接近；黄色染料与 10bp 双链 DNA 片段在 1%琼脂糖凝胶中迁移速率接近。

酶切位点：

5'...C ↓ C G G...3'
3'...G G C ↑ C...5'

产品特点：

1. 通用缓冲液。
2. 快速内切酶，可在 5-15 min 内完成反应。
3. 3 h 温育未表现星号活性。

失活条件： 80 $^{\circ}$ C温育 20 分钟。

质量控制：

功能活性检测：	37 $^{\circ}$ C下，在 20 μ L 通用 FastCut 反应体系中，1 μ L FastCut HpaII 能够在 15 min 内完全消化 1 μ g λ DNA。
超长时间温育检测：	37 $^{\circ}$ C下，在 20 μ L 通用 FastCut 反应体系中，将 1 μ L FastCut HpaII 与 1 μ g λ 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。
酶切-连接-再酶切检测:	37°C下, 使用 10 倍酶量的 FastCut HpaII 消化 DNA 底物, 回收酶切产物, 在 22°C下使用 T4 DNA Ligase 可以将超过 95% 的酶切产物重新连接。将连接产物再次回收后, 使用相同的内切酶可以重新切开 95%以上的连接产物。

使用方法(仅供参考):

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:

组份名称	质粒 DNA	PCR 产物	基因组 DNA
ddH ₂ O	15μL	16μL	30μL
10× FastCut Buffer 或 10× FastCut Color Buffer	2μL	3μL*	5μL
底物 DNA	2μL(up to 1μg)	10μL(~0.2μg)	10μL(5μg)
FastCut HpaII	1μL	1μL	5μL
Total	20μL	30μL	50μL

注: 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× FastCut Buffer 加入量可适当减少至 2μL。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°C温育 15 min(质粒), 或 15-30 min(PCR 产物), 或 30-60 min(基因 DNA)。
- 4) 80°C温育 20 min 即可使酶失活, 停止反应(可选)。
- 5) 如果使用 10× 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 1μL, 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

组份名称	组分用量				
DNA	1μg	2μg	3μg	4μg	5μg
FastCut HpaII	1μL	2μL	3μL	4μL	5μL

10× FastCut Buffer 或 10× FastCut Color Buffer	2μL	2μL	3μL	4μL	5μL
ddH ₂ O(Total Volume)	20μL	20μL	30μL	40μL	50μL

注：如果总反应体系大于 20μL，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：

λDNA	ΦX174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
328	5	26	13	13	1	18	171

在不同品牌反应缓冲液中的兼容性：

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

在不同品牌反应缓冲液中的兼容性：

Buffer	FastCut Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB CutSmart Buffer	Takara QuickCut Buffer
% Activity	100%	<25%	100%	100%

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。
2. 本制品仅供科研使用，严禁用于临床诊断和药物等用途。

=====

