

## RapidCut EcoRI

### RapidCut EcoRI 快速限制性内切酶

产品编号	产品名称	规格
BL1238A	RapidCut EcoRI 快速限制性内切酶	600 T

#### 产品简介:

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 RapidCut Buffer 中都具有优良的活性，能够在 5~15 分钟内完成酶切。RapidCut 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 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。

#### 产品组分:

组分名称	规格
RapidCut EcoRI	600 µL
10× RapidCut Buffer	3×1 mL
10× RapidCut Color Buffer	3×1 mL

#### 酶切位点:

5'...G ↓ A A T T C...3'

3'...C T T A A ↑ G...5'

#### 产品特点:

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

#### 失活条件

80°C 温育 20 min。

#### 质量控制:

##### 功能活性检测:

37°C 下，在 20 µL 通用 RapidCut 反应体系中，1 µL RapidCut EcoRI 能够在 15 min 内完全消化 1 µg λDNA。

##### 超长时间温育检测:

37°C 下，在 20 µL 通用 RapidCut 反应体系中，将 1 µL RapidCut EcoRI 与 1 µg λDNA 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 RapidCut EcoRI 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。

##### 非特异性内切酶活性检测:

37°C 下，在 20 µL 通用 RapidCut 反应体系中将 1 µL RapidCut EcoRI 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 转变成缺口或线性状态。

#### 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:

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



组分	质粒 DNA	PCR 产物	基因组 DNA
ddH <sub>2</sub> O	15 μL	16 μL	30 μL
10× RapidCut Buffer 或 10× RapidCut Color Buffer	2 μL	3 μL*	5 μL
底物 DNA	2 μL (up to 1 μg)	10 μL (~ 0.2 μg)	10 μL (5 μg)
RapidCut EcoRI	1 μL	1 μL	5 μL
Total	20 μL	30 μL	50 μL

\*: 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× RapidCut Buffer 加入量可适当减少至 2 μL。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 (基因组 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 RapidCut 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 μL, 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

组分	用量				
DNA	1 μg	2 μg	3 μg	4 μg	5 μg
RapidCut EcoRI	1 μL	2 μL	3 μL	4 μL	5 μL
10× RapidCut Buffer 或 10× RapidCut Color Buffer	2 μL	2 μL	3 μL	4 μL	5 μL
ddH <sub>2</sub> O	Up to 20 μL	Up to 20 μL	Up to 30 μL	Up to 40 μL	Up to 50 μL

注: 如果总反应体系大于 20 μL, 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
5	0	1	1	1	1	1	5

## 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

## 在不同品牌反应缓冲液中的兼容性

	RapidCut Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB CutSmart® Buffer	Takara QuickCut™ Buffer
活性	100%	100%	100%	100%

## 注意事项:

- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
- 2、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 有效期:

-20°C 储存, 2 年有效。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。

