

RapidCut SacI Restriction Endonucleases

RapidCut SacI 快速限制性内切酶

| 产品编号 | 产品名称 | 规格 |
|---------|------------------------|-------|
| BL1355A | RapidCut SacI 快速限制性内切酶 | 100 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 SacI | 100 μ L |
| 10 \times RapidCut Buffer | 1 mL |
| 10 \times RapidCut Color Buffer | 1 mL |

酶切位点:

5'...GAGCT↓C...3'
3'...C↑TCGAG...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 μ L 通用 RapidCut 反应体系中，1 μ L RapidCut SacI 能够在 15 min 内完全消化 1 μ g λ DNA (HindIII digest)。

超长时间温育检测:

37°C 下，在 20 μ L 通用 RapidCut 反应体系中，将 1 μ L RapidCut SacI 与 1 μ g λ DNA (HindIII digest)。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 SacI 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 μ L 通用 RapidCut 反应体系中将 1 μ L RapidCut SacI 与 1 μ g 超螺旋质粒

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。



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。

蓝白斑检测:

使用 1 μL RapidCut SacI 消化含有 lacZ α 基因且仅在该基因上具有 1 个酶切位点的特定载体。将酶切产物重新连接后转化到大肠杆菌感受态细胞中, 涂布在含有 X-gal、IPTG 和相应抗生素的 LB 平板培养基上生长。成功连接的 β - 半乳糖苷酶基因可以正确表达, 并生长出蓝色菌落; 而因酶切末端降解等原因未能重新连接的产物将得到白色菌落。对于 RapidCut 系列限制酶而言, 白色菌落的比例应当小于 1%。

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:

| 组分 | 质粒 DNA | PCR 产物 | 基因组 DNA |
|--|--|---|-------------------------------------|
| ddH ₂ O | 15 μL | 16 μL | 30 μL |
| 10 \times RapidCut Buffer 或 10 \times 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 SacI | 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 \times 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 $^{\circ}\text{C}$ 温育 15 min (质粒), 或 15~30 min (PCR 产物), 或 30~60 min (基因组 DNA);
- (4) 80 $^{\circ}\text{C}$ 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 SacI | 1 μL | 2 μL | 3 μL | 4 μL | 5 μL |
| 10 \times RapidCut Buffer 或 10 \times RapidCut Color Buffer | 2 μL | 2 μL | 3 μL | 4 μL | 5 μL |
| ddH ₂ 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

| λ DNA | Φ X174 | pBR322 | pUC57 | pUC18/19 | SV40 | M13mp18/19 | Adeno2 |
|---------------|-------------|--------|-------|----------|------|------------|--------|
| 2 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 16 |

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。



甲基化修饰影响

| Dam | Dcm | CpG | EcoKI | EcoBI |
|-----|-----|-----|-------|-------|
| 无影响 | 无影响 | 无影响 | 无影响 | 无影响 |

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。

