



GensCut TaqI

5'...T↓CGA...3'

3'...AGC↑T...5'

目录号

GS00420

产品组成

| 组分 | 规格 |
|-------------------------|--------|
| GensCut TaqI | 200 μL |
| 10×GensCut Buffer | 2×1 mL |
| 10×GensCut Color Buffer | 2×1 mL |

保存条件

-20°C保存 2 年。

产品简介

GensCut 快速内切酶是经过基因工程重组的限制性内切酶，可在 5~15 分钟内精确完成 DNA 切割，适用于质粒 DNA、PCR 产物或基因组 DNA 等的快速酶切。GensCut 系列快速内切酶提供一种通用酶切 Buffer，简化酶切反应体系；同时具有良好的酶活冗余度，轻松应对底物过量或困难模板酶切。

产品特点

- 5~15min 内完成酶切反应；
- 一种通用的酶切 Buffer；
- 良好的酶活冗余度。

适用范围

适用于质粒 DNA、PCR 产物或基因组 DNA 等的快速酶切。

本产品仅供科研使用

[Tel:400-077-2117](tel:400-077-2117)

Web:www.rondabio.com

注意事项

1. 酶切前建议对 PCR 产物进行纯化；
2. 最适反应温度为 65°C；
3. 3 h 温育未表现星号活性，延时酶切可能出现星号活性；
4. 受 Dam 甲基化影响，序列可能重叠，剪切阻断
5. 所有内切酶的使用体积总和不得超过总反应体系的 1/10；
6. 不可热失活。

质量控制

1. 功能活性检测：最适反应温度下，在 20 μL 反应体系中，1 μL 酶能够在 15 min 内完全消化 1 μg λDNA (Dam-)。
2. 超长时间温育检测：最适反应温度下，将 1 μL 酶与 1 μg λDNA (Dam-)共孵育 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，但延长孵育时间可能出现星号活性。
3. 酶切-连接-再酶切检测：最适反应温度下，使用 1 μL 酶消化底物，回收酶切产物，在 22°C 下使用适量 T4 DNA 连接酶可以将酶切产物重新连接，将连接产物再次回收后，使用相同的内切酶可以重新切开连接产物。

使用方法

1. DNA 的快速酶切

- 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 × GensCut Buffer /10× GensCut Color Buffer | 2 μL | 3 μL * | 5 μL |
| 底物 DNA | 2 μL (~1 μg) | 10 μL (~0.2 μg) | 10 μL (5 μg) |
| GensCut TaqI | 1 μL | 1 μL | 5 μL |
| Total | 20 μL | 30 μL | 50 μL |

* :本体系指已纯化后的 PCR 产物。未纯化的 PCR 产物具备一定的离子强度，10 × GensCut Buffer 加入量可适当减少至 2 μL 。若下一步进行克隆等实验，酶切前需纯化 PCR 产物。

- 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) 65°C 孵育 15 min（质粒），或 15~30 min（PCR 产物），或 30~60 min（基因组 DNA）；
- 4) 酚氯仿抽提或柱纯化（可选）。

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

| | | | | | |
|--------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| DNA | 1 μg | 2 μg | 3 μg | 4 μg | 5 μg |
| GensCut TaqI | 1 μL | 2 μL | 3 μL | 4 μL | 5 μL |
| 10×GensCut Buffer | | | | | |
| /10×GensCut Color Buffer | 2 μL | 2 μL | 3 μL | 4 μL | 5 μL |
| Total | 20 μL | 20 μL | 30 μL | 40 μL | 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 种的酶切位点数量

| λDNA | ΦX174 | pBR322 | pUC57 | pUC18/19 | SV40 | M13mp18/19 | Adeno2 |
|---------------------|-------------------|--------|-------|----------|------|------------|--------|
| 121 | 10 | 7 | 4 | 4 | 1 | 12 | 50 |

甲基化修饰影响

| Dam | Dcm | CpG | EcoKI | EcoBI |
|----------------|-----|-----|-------|-------|
| 序列可能重叠 剪切阻断 | 无影响 | 无影响 | 无影响 | 无影响 |

在不同反应缓冲液中的活性

| 缓冲液 | GensCut Buffer | Thermo Scientific FastDigest Buffer | NEB CutSmart® Buffer | Takara QuickCut™ Buffer |
|-----|----------------|--|-------------------------|----------------------------|
| 活性 | 100% | 100% | - | 100% |

注意：活性数据来自金沙生物限制酶标准反应体系下的检测。

同裂酶

TthHB8I；同裂酶对于不同的甲基化修饰可能具有不同敏感性。