

HhaI 快速内切酶

货号: F4510S

储存条件: -20°C



同裂酶: HinP1I, CfoI, AspLEI, Hin6I, HspAI, BstHII ; 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
LabFD™ HhaI	100 µl
10×LabFD™ Buffer	1ml
10×LabFD™ Color Buffer	1ml

产品简介:

LabFD™快速内切酶是一系列经过基因工程重组、能够在 5~15 分钟内精确完成 DNA 切割的高保真限制性内切酶, 适用于质粒 DNA、PCR 产物或基因组 DNA 等的快速酶切。LabFD™快速内切酶具有如下特点: 5~15 分钟内即可完成酶切; 共用一种酶切 Buffer, 大大简化酶切反应体系; 良好的酶活冗余度, 轻松应对底物过量或困难模板酶切。此外, LABLEAD 去磷酸化、连接试剂在 LabFD™酶切 Buffer 中具有 100%活性, 支持一管化反应, 提升“酶切-修饰-连接”的体验。

LabFD™ 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。LabFD™ 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% 琼脂糖凝胶中迁移率接近。

建议反应条件:

1×LabFD™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。

质量控制

功能活性检测

37°C下, 在 20µl 反应体系中, 1µl LabFD™ HhaI 能够在 15min 内完全消化 1µg λDNA。

超长时间温育检测

37°C下, 在 20µl 反应体系中, 将 1 µl LabFD™ HhaI 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 LabFD™ HhaI 消化 DNA 底物, 回收酶切产物, 在 22°C下使用 Fast T4 DNA Ligase 可以将超过 95% 酶切产物重新连接。可以重新切开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

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×LabFD™ Buffer 或 10×LabFD™ Color Buffer	2μl	3μl ^a	5μl
底物 DNA	2μl(up to 1ug)	10μl(~0.2ug)	10μl(5ug)
LabFD™ HhaI	1μl	1μl	5μl
Total	20μl	30μl	50μl

a 注: 本体系适用于经过纯化的 PCR 产物酶切, 未纯化的 PCR 具备一定的离子强度, 10×LabFD™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) 轻柔拍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 15min (质粒), 或 15~30min (PCR 产物), 或 30~60min (基因组 DNA);
- 4) 80°C 温育 20min 即可使酶失活, 停止反应 (可选)。
- 5) 如果使用 LabFD™ 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

DNA	1μg	2μg	3μg	4μg	5μg
LabFD™ HhaI	1μl	2μl	3μl	4μl	5μl
10×LabFD™ Buffer 或 10×LabFD™ Color Buffer	2μl	2μl	3μl	4μl	5μl
Total	20μl	20μl	30μl	40μl	50μl

注: 如果总反应体系大于 20ul, 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
215	18	31	17	17	2	26	375

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	无影响

在不同反应缓冲液中的活性

	LabFD™ Buffer	Thermo Scientific Fast Digest Buffer	NEB Cut Smart® Buffer	Takara Quick Cut™ Buffer
活性	100%	100%	100%	100%

注: 活性数据来自 LABLEAD 限制酶标准反应体系下的检测。

