



Tsp45I 限制性内切酶

产品货号: F4517S

储存条件: -20°C

5'...G T S A C...3'
3'...C A S T G...5'

同裂酶: NmuCI, TseFI

(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™ Tsp45I	25ul
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 LabFD™ 快速内切酶在通用的LabFD™或LabFD™ Color Buffer中都具有优良的活性, 能够在 5~15 分钟内完成酶切。此外, 兰博利德去磷酸化、连接试剂在LabFD™ Buffer 中均具有 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。

建议反应条件: 1×LabFD™缓冲液; 65°C温育; 参照“DNA 快速酶切流程”配制反应体系。本品在 37°C进行酶切反应时, 有 50% 的活性。

失活条件: 不可热失活, 请使用酚氯仿抽提或柱纯化。

质量控制

功能活性检测

65°C下, 在 20ul 反应体系中, 1ul LabFD™ Tsp45I 能够在 15min 内完全消化 1ug λDNA。

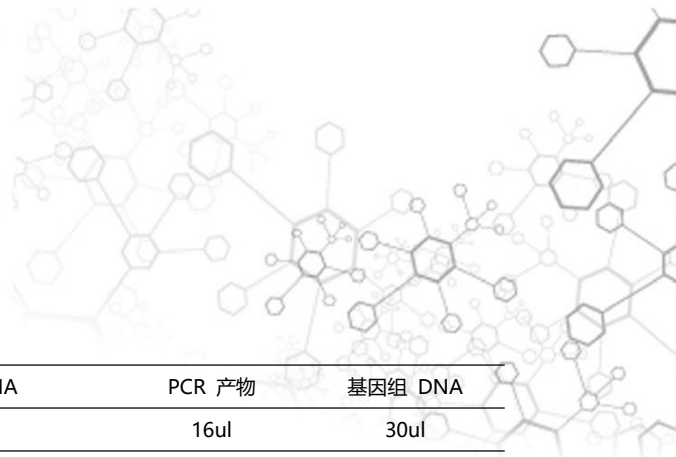
超长时间温育检测

65°C下, 将 1ul LabFD™ Tsp45I 与 1ug λ DNA 共同温育 3h, 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, 延时酶切可能出现星号活性。

酶切-连接-再酶切检测

65°C下, 使用 10 倍酶量的 LabFD™ Tsp45I 消化 DNA 底物, 回收酶切产物, 在 22°C下使用 T4 DNA Ligase (Fast) 可以将超过 90% 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	15ul	16ul	30ul
10×LabFD™ Buffer 或 10×LabFD™ Color Buffer	2ul	3ul	5ul
底物 DNA	2ul(up to 1ug)	10ul(~0.2ug)	10ul(5ug)
LabFD™ Tsp45I	1ul	1ul	5ul
Total	20ul	30ul	50ul

a. 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× 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**温育 15min（质粒），或 15~30min（PCR 产物），或 30~60min（基因组 DNA）；
- (4) 酚氯仿抽提或柱纯化（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1ul，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，应先后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

注：如果总反应体系大于 20ul，应当适当增加温育时间，尽量使用水浴、金属浴或沙浴。

DNA	1ug	2ug	3ug	4ug	5ug
LabFD™ Tsp45I	1ul	2ul	3ul	4ul	5ul
10×LabFD™ Buffer 或 10×LabFD™ Color Buffer	2ul	2ul	3ul	4ul	5ul
Total	20ul	20ul	30ul	40ul	50ul

不同 DNA 中的酶切位点数量

λDNA	ΦX174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
81	8	9	4	4	6	8	73

甲基化修饰影响

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

在不同反应缓冲液中的活性

	LabFD™ Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB CutSmart®Buffer	Takara QuickCut™Buffer
活性	100%	12.5%	100%	25%

注：活性数据来自 LABLEAD 限制酶标准反应体系下的检测。

