

## TaqI 限制性内切酶

货号: F5580S

储存条件: -20°C

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

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

### 产品组成

组分	规格
LabFD™ TaqI	200ul
10×LabFD™ Buffer	2× 1ml
10×LabFD™ Color Buffer	2× 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 中具有优良的活性，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 10bp 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。

### 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，1ulLabFD™ TaqI 能够在 15min 内完全消化 1ug λDNA (Dam<sup>-</sup>)。

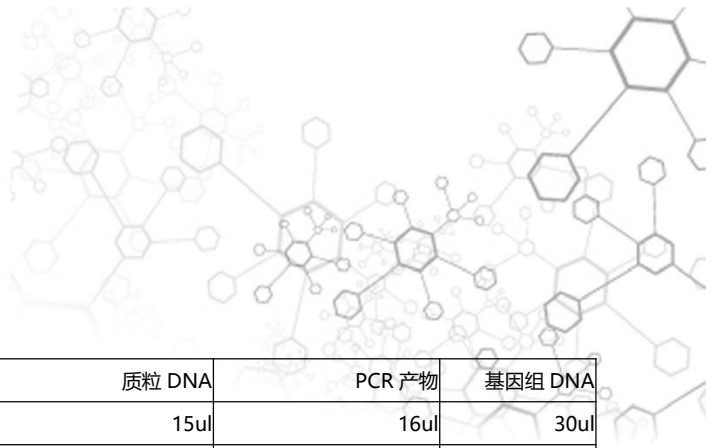
#### 超长时间温育检测

65°C下，将 1ul LabFD™ TaqI 与 1ug λDNA (Dam<sup>-</sup>)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 1ul LabFD™ TaqI 消化底物，回收酶切产物。在 22°C下使用适量 Fast T4 DNA Ligase 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 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 <sub>2</sub> O	15ul	16ul	30ul
10×LabFD™ Buffer 或 10×LabFD™ Color Buffer	2ul	3ul <sup>a</sup>	5ul
底物 DNA	2ul(up to 1ug)	10ul(~0.2ug)	10ul(5ug)
LabFD™ TaqI	1ul	1ul	5ul
Total	20ul	30ul	50ul

<sup>a</sup>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 2ul。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, 并需要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**

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。

DNA	1ug	2ug	3ug	4ug	5ug
LabFD™ TaqI	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	pACYC184	M13mp18/19	Adeno2
121	10	7	4	4	1	12	50

**甲基化修饰影响**

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

**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%	100%	100%	100%

注: 活性数据来自 LABLEAD 限制酶标准反应体系下的检测。

