



快速内切酶 MscI

产品货号: F7505S

储存条件: -20°C

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

同裂酶: Ball, Mlsl, Mox20I, Msp20I (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™ MscI | 30 ul |
| 10×LabFD™ Buffer | 1 ml |
| 10×LabFD™ Color Buffer | 1 ml |

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, LABLEAD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 buffer; 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 20ul 反应体系中, 1ul LabFD™ MscI 能够在 15min 内完全消化 1ug λDNA。

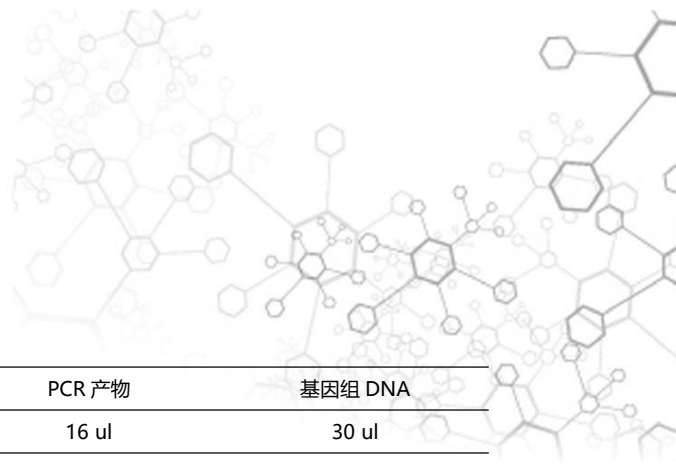
超长时间温育检测

37°C下, 在 20ul 反应体系中, 将1ul LabFD™ MscI与1ug λDNA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, 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™ MscI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。





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 | 15 ul | 16 ul | 30 ul |
| 10×LabFD Buffer 或 10×LabFD Color Buffer | 2 ul | 3 ul | 5 ul |
| 底物 DNA | 2ul (up to 1 ug) | 10 ul (~0.2 ug) | 10 ul (5 ug) |
| LabFD™ MscI | 1 ul | 1 ul | 5 ul |
| Total | 20 ul | 30 ul | 50 ul |

注：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°C温育15 min（质粒），或15~30 min（PCR产物），或30~60 min（基因组DNA）；
- (4) 80°C温育 20 min 即可使酶失活，终止反应（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 ug | 2 ug | 3 ug | 4 ug | 5 ug |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|
| LabFD™ MscI | 1 ul | 2 ul | 3 ul | 4 ul | 5 ul |
| 10×LabFD Buffer 或 10×LabFD Color Buffer | 1 ul | 2 ul | 3 ul | 4 ul | 5 ul |
| Total | 20 ul | 20 ul | 30 ul | 40 ul | 50 ul |

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

| λDNA | ΦX174 | pBR322 | pUC57 | pUC18/19 | SV40 | M13mp18/19 | Adeno2 |
|------|-------|--------|-------|----------|------|------------|--------|
| 18 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 17 |

甲基化修饰影响

| Dam | Dcm | CpG | EcoKI | EcoBI |
|-----|------|-----|-------|-------|
| 无影响 | 剪切受阻 | 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。

