FastCut® DdeI

产品编号	产品名称	包装规格
NBS8155	FastCut® DdeI	50 rxns

产品简介：

FastCut®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 FastCut®快速内切酶在通用的 CutOne® 或 CutOne® Color Buffer 中都具有优良的活性，能够在 5~15 分钟内完成酶切。此外去磷酸化、连接试剂在 CutOne® 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。

CutOne® 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。CutOne® 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。

识别位点：

CTNAG

5'...C ↓ T N A G...3'

3'...G A N T ↑ C...5'

同裂酶：BstDEI, HpyF3I

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
FastCut® DdeI	50 µl
10× CutOne® Buffer	1 ml
10× CutOne® Color Buffer	1 ml

保存条件：

-20℃保存，2 年有效。

建议反应条件：

1× CutOne® 缓冲液；

37℃温育；

参照“DNA 快速酶切流程”配制反应体系。

失活条件：

80℃温育 20 min。

功能活性检测：

37℃下，在 20 μl 通用 CutOne®反应体系中，1 μl FastCut® DdeI 能够在 15 min 内完全消化 1 μg λDNA。

超长时间温育检测：

37℃下，在 20 μl 通用 CutOne®反应体系中，将 1 μl FastCut® DdeI 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℃下，使用 10 倍酶量的 FastCut® DdeI 消化 DNA 底物，回收酶切产物，在 22℃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约 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_2O	15μl	16μl	30μl
10× CutOne® Buffer 或 10× CutOne® Color Buffer	2μl	3μl[a]	5μl
底物 DNA	2μl (up to 1μg)	10μl (~0.2μg)	10μl (5μg)
FastCut® DdeI	1μl	1μl	5μl

Total	20μl	30μl	50μl

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× CutOne® 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℃温育 15 min（质粒），或 15~30 min（PCR 产物），或 30~60 min（基因组 DNA）；

④ 80℃温育 20 min 即可使酶失活，停止反应（可选）；

⑤ 如果使用 CutOne® 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	1μg	2μg	3μg	4μg	5μg
FastCut® DdeI	1μl	2μl	3μl	4μl	5μl
10× CutOne® Buffer 或 10×CutOne® Color Buffer	2μl	2μl	3μl	4μl	5μl
Total	20μl	20 μl	30μl	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 中的酶切位点数量

λDNA	ΦX174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
104	14	8	6	6	20	29	97

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

	CutOne® Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB rCutSmart™ Buffer	Takara QuickCut™ Buffer
活性	100%	100%	100%	50%

注：活性数据来自限制酶标准反应体系下的检测。

注意事项：

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其他用途！