

FlashCut™ EcoRI

REF: MF00801

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

同裂酶: FunII

▲注: 同裂酶对于不同的甲基化修饰可能具有不同敏感性。



储运条件

-20°C

产品组成

组分 / 规格	MF00801S	MF00801M
FlashCut™ EcoRI	500 µl	5×500 µl
10× FlashOne™ Buffer	1 ml	5×1 ml
10× FlashOne™ Color Buffer	1 ml	5×1 ml
6× Loading Buffer	500 µl	5×500 µl

产品简介

FlashCut™ 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。FlashCut™ 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, 莫纳去磷酸化、连接试剂在 FlashOne™ 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。

建议的反应条件

1× FlashOne™ 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

最适反应温度下, 在 20 µl 反应体系中, 1 µl FlashCut™ EcoRI 能够在 15 min 内完全消化 1 µg λDNA。

超长时间温育检测

最适反应温度下, 将 1 µl FlashCut™ EcoRI 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, 延时酶切可能出现星号活性。

酶切-连接-再酶切检测

最适反应温度下, 使用 1 µl FlashCut™ EcoRI 消化底物, 回收酶切产物。在 22°C 下使用适量 MonClone™ 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。

非特异性内切酶活性检测

最适反应温度下, 将 1 µl FlashCut™ EcoRI 与 1 µg 超螺旋质粒 DNA 共同温育 4 h, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 质粒 DNA 仍然处于超螺旋状态。

蓝白斑检测

将含有单一 *lacZα* 基因的载体以 1 µl FlashCut™ EcoRI 消化, 重新连接后转化入大肠杆菌感受态细胞, 涂布在含有对应抗生素、IPTG 和 X-gal 的 LB 培养基平板上。连接正确的产物会生长出蓝色菌落, 而连接错误 (即 DNA 末端切口不完整) 的产物将得到白色菌落。对于 FlashCut™ 系列限制酶而言, 白色菌落比例应小于 1%。

图标注释

- 快速内切酶, 可在 5~15 min 内完成反应
- 最适反应温度为 37°C
- 受 CpG 甲基化影响, 序列可能重叠, 剪切受阻
- 失活条件为 80°C 温育 20 min
- 3 h 温育未表现星号活性, 延时酶切可能出现星号活性

☎ 400-928-3698

莫纳生物科技有限公司
Monad Biotech Co., Ltd.

E-mail: support@monadbiotech.com
Web: www.monadbiotech.com



Simply Discover More

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 µl	16 µl	30 µl
10× FlashOne™ Buffer 或 10× FlashOne™ Color Buffer	2 µl	3 µl ^a	5 µl
底物 DNA	2 µl (up to 1 µg)	10 µl (~0.2 µg)	10 µl (5 µg)
FlashCut™ EcoRI	1 µl	1 µl	5 µl
Total	20 µl	30 µl	50 µl

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× FlashOne™ 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，停止反应（可选）。

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 µg	2 µg	3 µg	4 µg	5 µg
FlashCut™ EcoRI	1 µl	2 µl	3 µl	4 µl	5 µl
10× FlashOne™ Buffer 或 10× FlashOne™ Color Buffer	2 µl	2 µl	3 µl	4 µl	5 µl
Total	20 µl	20 µl	30 µl	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
5	0	1	1	1	1	1	5

甲基化修饰影响

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
无影响	无影响	序列可能重叠 剪切受阻	无影响	无影响

在不同反应缓冲液中的活性

	Monad FlashOne™ Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB CutSmart® Buffer	Takara QuickCut™ Buffer
活性	100%	100%	100%	100%

▲ 注：活性数据来自 Monad 限制酶标准反应体系下的检测。

注意事项：

酶切后进行琼脂糖凝胶电泳验证时，建议添加上样体积 1/5 的 6× Loading Buffer 至 Loading Buffer 终浓度为 1×，可以有效地分离酶与核酸，避免跑胶条带异常。

☎ 400-928-3698

莫纳生物科技有限公司
Monad Biotech Co., Ltd.

E-mail: support@monadbiotech.com
Web: www.monadbiotech.com



Simply Discover More