

RapidCut EagI Restriction Endonucleases

RapidCut EagI 快速限制性内切酶

产品编号	产品名称	规格
BL1346A	RapidCut EagI 快速限制性内切酶	25 T

产品简介:

本产品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。所有快速内切酶在通用的 RapidCut Buffer 中都具有优良的活性，能够在 5~15 分钟内完成酶切。RapidCut 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。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。

产品组分:

组分名称	规格
RapidCut EagI	25 μ L
10 \times RapidCut Buffer	1 mL
10 \times RapidCut Color Buffer	1 mL

酶切位点:

5'...C↓GGCCG...3'
 3'...GCCGG↑C...5'

产品特点:

- ◇ 通用缓冲液
- ◇ 快速内切酶，可在 5~15 min 内完成反应
- ◇ 3 h 温育未表现星号活性

失活条件

80°C温育 20 min。

质量控制:

功能活性检测:

37°C下，在 20 μ L 通用 RapidCut 反应体系中，1 μ L RapidCut EagI 能够在 15 min 内完全消化 1 μ g pEPE DNA。

超长时间温育检测:

37°C下，在 20 μ L 通用 RapidCut 反应体系中，将 1 μ L RapidCut EagI 与 1 μ g pEPE DNA 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°C下，使用 10 倍酶量的 RapidCut EagI 消化 DNA 底物，回收酶切产物，在 22°C下使用 T4 DNA Ligase 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。

非特异性内切酶活性检测:

37°C下，在 20 μ L 通用 RapidCut 反应体系中将 1 μ L RapidCut EagI 与 1 μ g 超螺旋质

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



粒 DNA 共同温育 4 h 后，使用琼脂糖凝胶电泳检测，少于 10% 的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

蓝白斑检测：

使用 1 μ L RapidCut EagI 消化含有 lacZ α 基因且仅在该基因上具有 1 个酶切位点的特定载体。将酶切产物重新连接后转化到大肠杆菌感受态细胞中，涂布在含有 X-gal、IPTG 和相应抗生素的 LB 平板培养基上生长。成功连接的 β -半乳糖苷酶基因可以正确表达，并生长出蓝色菌落；而因酶切末端降解等原因未能重新连接的产物将得到白色菌落。对于 RapidCut 系列限制酶而言，白色菌落的比例应当小于 1%。

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：

组分	质粒 DNA	PCR 产物	基因组 DNA
ddH ₂ O	15 μ L	16 μ L	30 μ L
10 \times RapidCut Buffer 或 10 \times RapidCut Color Buffer	2 μ L	3 μ L*	5 μ L
底物 DNA	2 μ L (up to 1 μ g)	10 μ L (~ 0.2 μ g)	10 μ L (5 μ g)
RapidCut EagI	1 μ L	1 μ L	5 μ L
Total	20 μ L	30 μ L	50 μ L

*：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 \times RapidCut Buffer 加入量可适当减少至 2 μ L。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 $^{\circ}$ C 温育 15 min（质粒），或 15~30 min（PCR 产物），或 30~60 min（基因组 DNA）；
- (4) 80 $^{\circ}$ C 温育 20 min 即可使酶失活，停止反应（可选）；
- (5) 如果使用 RapidCut 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 μ L，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

组分	用量				
DNA	1 μ g	2 μ g	3 μ g	4 μ g	5 μ g
RapidCut EagI	1 μ L	2 μ L	3 μ L	4 μ L	5 μ L
10 \times RapidCut Buffer 或 10 \times RapidCut Color Buffer	2 μ L	2 μ L	3 μ L	4 μ L	5 μ L
ddH ₂ O	Up to 20 μ L	Up to 20 μ L	Up to 30 μ L	Up to 40 μ L	Up to 50 μ L

注：如果总反应体系大于 20 μ L，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

λ DNA	Φ X174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
2	0	1	0	0	0	0	19

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



甲基化修饰影响

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

在不同品牌反应缓冲液中的兼容性

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

注意事项:

- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

-20°C储存，2年有效。

