

## RapidCut PspGI (EcoRII) Restriction Endonucleases

### RapidCut PspGI (EcoRII)快速限制性内切酶

| 产品编号    | 产品名称                            | 规格    |
|---------|---------------------------------|-------|
| BL1552A | RapidCut PspGI (EcoRII)快速限制性内切酶 | 200 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 PspGI (EcoRII)   | 200 µL |
| 10× RapidCut Buffer       | 2×1 mL |
| 10× RapidCut Color Buffer | 2×1 mL |

#### 酶切位点:

5'... ↓ C C W G G ...3'  
 3'... G G W C 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

#### 质量控制:

##### 功能活性检测:

75°C下，在 20 µL 通用 RapidCut 反应体系中，1 µL RapidCut PspGI (EcoRII)能够在 15 min 内完全消化 1 µg λDNA。

##### 超长时间温育检测:

75°C下，在 20 µL 通用 RapidCut 反应体系中，将 1 µL RapidCut PspGI (EcoRII)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:

75°C下，使用 10 倍酶量的 RapidCut PspGI (EcoRII)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

35°C下，在 20 µL 通用 CutOne 反应体系中将 1 µL RapidCut PspGI (EcoRII) 与 1 µg 超螺旋质粒 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。

#### 使用方法:

##### 1. DNA 快速酶切流程

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。



(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 <sub>2</sub> O                                 | 42 μL             | 34 μL            | 30 μL        |
| 10× RapidCut Buffer 或<br>10× RapidCut Color Buffer | 5 μL              | 5 μL*            | 5 μL         |
| 底物 DNA                                             | 2 μL (up to 1 μg) | 10 μL (~ 0.2 μg) | 10 μL (5 μg) |
| RapidCut PspGI (EcoRII)                            | 1 μL              | 1 μL             | 5 μL         |
| Total                                              | 50 μL             | 50 μL            | 50 μL        |

\*: 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× RapidCut 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) 75°C 温育 15 min (质粒), 或 15~30 min (PCR 产物), 或 30~60 min (基因组 DNA);
- (4) 酚氯仿抽提或柱纯化 (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 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

| 组分                                                 | 用量             |                |                |                |                |
|----------------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| DNA                                                | 1 μg           | 2 μg           | 3 μg           | 4 μg           | 5 μg           |
| RapidCut PspGI (EcoRII)                            | 1 μL           | 2 μL           | 3 μL           | 4 μL           | 5 μL           |
| 10× RapidCut Buffer 或<br>10× RapidCut Color Buffer | 2 μL           | 2 μL           | 3 μL           | 4 μL           | 5 μL           |
| ddH <sub>2</sub> O                                 | Up to 20<br>μL | Up to 20<br>μL | Up to 30<br>μL | Up to 40<br>μL | Up to 50<br>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 |
|------|-------|--------|-------|----------|------|------------|--------|
| 71   | 2     | 6      | 5     | 5        | 17   | 7          | 136    |

## 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   |

## 在不同品牌反应缓冲液中的兼容性

|    | RapidCut Buffer | Thermo Scientific<br>FastDigest Buffer | NEB CutSmart®<br>Buffer | Takara QuickCut™<br>Buffer |
|----|-----------------|----------------------------------------|-------------------------|----------------------------|
| 活性 | 100%            | 100%                                   | 100%                    | 50%                        |

## 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。

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。

