杭州新景生物试剂开发有限公司
地址：浙江省杭州市西湖科技经济园西园一路 8 号 4 幢 5F
邮编：310030 电话：0571-87381295 传真：0571-87381297

# MinuteCut™ DpnⅡ

## 酶切位点

5’ …|GATC …3’
3’ … CTAG| …5’

## 产品组成

| MinuteCut™ DpnⅡ<br>Cat. No. | 10 次<br>6028010 | 50 次<br>6028050 |
|---|---|---|
| MinuteCut™ DpnⅡ | 10 μl | 50 μl |
| 10×MinuteCut™ Buffer | 50 μl | 1.5 ml |
| 10×MinuteCut™ Red Buffer | 50 μl | 1.5 ml |
| 10×Loading Buffer | 1.5 ml | 1.5 ml |
| 说明书 | 1 份 | 1 份 |

## 产品储存

－20℃保存,有效期为两年以上。

## 技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn，电话：400-0099-857。

## 产品介绍

MinuteCut™ 快速内切酶是经过基因工程重组，能够在 5~15 分钟内快速、精确地完成 DNA 切割的限制性内切酶，适用于质粒 DNA、PCR 产物或基因组 DNA 的快速酶切。所有 MinuteCut™ 快速内切酶系列产品均可共用一种 10×MinuteCut™ Buffer 或 10×MinuteCut™ Red Buffer，大大简化酶切反应体系。此外，本公司的去磷酸化、连接试剂在 MinuteCut™ 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。

## 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，1μl MinuteCut™ DpnⅡ能够在 5 min 内完全消化 1μg λDNA(Dam⁻)。

### 超长时间温育检测

最适反应温度下，将 1μl MinuteCut™ DpnⅡ与 1μg 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，延时酶切可能出现星号活性。

### 非特异性内切酶活性检测

最适反应温度下，将 1μlMinuteCut™ DpnⅡ与 1μg 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。

# 使用方法

1.DNA 快速酶切

按下表配置

| | 质粒 DNA | *PCR 产物 | 基因组 DNA |
|---|---|---|---|
| DNA | ≤1μg | ≤ 0.2μg | ≤1μg |
| MinuteCut™ Dpn Ⅱ | 1 μl | 1 μl | 1 μl |
| 10×MinuteCut™ Buffer 或 10×MinuteCut™ Red Buffer | 2 μl | 3 μl | 3 μl |
| $ddH_2O$ | 5~15 μl | 5~20 μl | 5~20 μl |
| Total | 20 μl | 30 μl | 30 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，且残留的 Taq 酶具有外切酶活性，会直接影响 DNA 酶切的精确度，因此如果酶切产物后续需进行克隆等操作，推荐用 Simgen DNA 纯化试剂盒（Cat. No. 2101050）对 PCR 产物进行纯化后再进行酶切。

(1) 轻轻吹打或轻弹管壁混匀，低速离心数秒使液体聚集到离心管管底。

(2) 37℃温育 5-15 min（PCR 产物和基因组 DNA 保温 5min，质粒保温 15min）。

(3) 将酶切产物直接电泳（使用 10×MinuteCut™ Red Buffer）或与 10×Loading Buffer 混合后（使用 10×MinuteCut™ Buffer）电泳。

2.双酶切或多酶切

(1) 每种快速内切酶的用量为 1μl，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，比如常用的双酶切体系至少需要在 20 μl 的反应体系中酶切；

(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。

# 注意事项

1) 不建议进行 10 hr 以上酶切，易导致星活性。

2）10×MinuteCut™ Red Buffer 可能会干扰酶切产物的荧光分析。因此，酶切产物荧光分析检测时推荐使用无色的 10×MinuteCut™ Buffer。

3）DNA 酶切 5 min 仍不能被切开，说明 DNA 含有抑制内切酶活性的抑制物，可选用 Simgen DNA 纯化试剂盒（Cat. No. 2101050）对 DNA 进行纯化后再进行酶切。

4）如果从野生型的大肠杆菌或者是非限制性内切酶缺陷型（endA+）的宿主菌（比如 BL21、HB101 等）的中提取的质粒 DNA 用作酶切，可能会出现酶切产物拖尾的现象，可选用 Simgen DNA 纯化试剂盒（Cat. No. 2101050）对质粒 DNA 进行纯化后再进行酶切。

5）甲基化修饰影响

| Dam | Dcm | CpG | EcoKI | EcoBI |
|---|---|---|---|---|
| 序列完全重叠 剪切阻断 | 无影响 | 无影响 | 无影响 | 序列可能重叠 剪切阻断 |