## 产品概述

宝锐快切系列的限制性内切酶是经过基因工程重组改造，可在 5-15 min 内完成 DNA 精准切割的快速限制性内切酶。适用于质粒 DNA、PCR 产物以及基因组 DNA 等多种核酸底物的快速酶切反应。所有快切系列内切酶在 10×Cut-Buffer 通用缓冲液中均可保持 100%酶活性， 本品支持在单一反应体系内实现多种内切酶同步酶切，省去分步酶切操作，从而有效简化实验流程。其识别和切割序列如下：

5'...CTGCA↓G...3'

3'...G↑ACGTC...5'

## 产品组分

| Components | BR1G147-01<br>500 T |
|---|---|
| Pst I | 500 μL |
| 10×Cut-Buffer | 3×1 mL |

## 保存条件

-20±5°C存储。

## 适用范围

基因组 DNA，质粒 DNA 和 PCR 产物的酶切。

## 注意事项

1. 本产品仅作科研用途，不用于临床诊断。
2. 使用前应混匀，避免反复冻融。
3. 限制性内切酶添加体积不超过反应体积的 1/10。
4. 不建议进行 3 h 以上的酶切，过长时间酶切可能会导致星活性。

## 使用方法

1. DNA 快速酶切流程

1.1 反应体系配制（冰上操作）：

| 组分 | 质粒 DNA | PCR 产物 | 基因组 DNA |
|---|---|---|---|
| 10×Cut-Buffer | 2 μL | 3 μL* | 5 μL |
| Pst I | 1 μL | 1 μL | 5 μL |
| 底物 DNA | 1 μg | 0.2 μg | 5 μg |
| $ddH_2O$ | To 20 μL | To 30 μL | To 50 μL |

*反应体系可根据实际需求等比例放大或缩小。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×Cut-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，会影响酶切产物的末端完整性，因此如下一步需进行克隆等操作，推荐对 PCR 产物进行纯化后再酶切，避免影响克隆效率。

1.2 轻弹管壁混匀，瞬时离心收集至管底。

1.3 37°C温育 15 min (质粒 DNA)，或 15-30 min (PCR 产物)，或 30-60 min (基因组 DNA)。

2. 双酶切或多酶切

2.1 每种内切酶的用量依旧参考上表，可根据需要适当扩大或缩小反应体系，但要注意调整 Buffer 用量确保其终浓度为 1×。

2.2 所有内切酶的总体积不得超过总反应体系的 1/10。

2.3 如果选用的几种内切酶的反应温度不同，应先以最适反应温度低的酶开始酶切，再添加最适温度较高的酶，以较高的温度进行孵育。

3. 甲基化修饰影响

| Dam | Dcm | CpG | EcoKI | EcoBI |
|---|---|---|---|---|
| 无影响 | 无影响 | 无影响 | 无影响 | 无影响 |

4. 不同 DNA 中的酶切位点数量

| pUC18/19 | SV40 | M13mp18/19 | Adeno2 | λDNA | ΦX174 | pBR322 | pUC57 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2 | 1 | 30 | 28 | 1 | 1 | 1 |

5. 在不同反应缓冲液中的活性

| 反应缓冲液 | 10×Cut-Buffer | Thermo Scientific FastDigest Buffer | NEB rCutSmart™ Buffer | Takara QuickCut™ Buffer |
|---|---|---|---|---|
| 活性 | 100% | 100% | 100% | 100% |

6. 失活条件

不可热失活，请使用酚氯仿抽提或柱纯化。