

使用前请仔细阅读说明书版本号：202201

LightSpeed^{系列} SpeI

目录号：EZ22038S 规格：50T 保存：-20°C保存及运输，有效期至少一年。

产品简介：



注：同裂酶：AhlI, BclI 同裂酶对于不同的甲基化修饰也许具有不同敏感性。。

LightSpeed^{系列} 超快速内切酶是一系列经过基因工程重组、快速、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。LightSpeed^{系列} 超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，去磷酸化、连接试剂在 EZ 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。

试剂内容：

组分	规格
LightSpeed ^{系列} SpeI	50μL
10× EZ Buffer	1mL
10× EZ Color Buffer	1mL

质量控制：

功能活性检测

最适反应温度下，在 20μl 反应体系中，1μl LightSpeed^{系列} SpeI 能够在 15min 内完全消化 1μg pUC19-SpeI DNA。

超长时间温育检测

最适反应温度下，将 1μl LightSpeed^{系列} SpeI 与 1μg pUC19-SpeI DNA 共温育 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。

酶切-连接-再酶切检测

最适反应温度下，使用 1μl LightSpeed^{系列} SpeI 消化底物，回收酶切产物。在 22°C 下使用适量 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 1μl LightSpeed^{系列} SpeI 与 1μg 超螺旋质粒 DNA 共同温育 4h，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 1μl LightSpeed^{系列} SpeI 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 LightSpeed^{系列} 限制酶而言，白色菌落比例应小于 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:

	质粒 DNA	PCR 产物	基因组 DNA
ddH ₂ O	15μL	16μL	30μL
10× EZ Buffer 或 10× EZ Color Buffer	2μL	3μL	5μL
底物 DNA	2μL (up to 1μg)	10μL (~0.2μg)	10μL (5μg)
LightSpeed ^{系列} Spel	1μL	1μL	5μL
Total	20μL	30μL	50μL

注: 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× EZ Buffer 加入量可适当减少至 2μL。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;
- ③37°C温育 15 分钟(质粒), 或 15~30 分钟(PCR 产物), 或 30~60 分钟(基因组 DNA);
- ④80°C温育 20 分钟即可使酶失活, 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 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;
- 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, 再添加工最适温度较高的酶, 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	1μg	2μg	3μg	4μg	5μg
LightSpeed ^{系列} Spel	1μL	2μL	3μL	4μL	5μL
10× EZ Buffer 或 10× EZ Color Buffer	2μL	2μL	3μL	4μL	5μL
Total	20μL	20μL	30μL	40μL	50μL

注: 如果总反应体系大于 20μL, 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
0	0	0	0	0	0	0	3

甲基化修饰影响

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
无影响	无影响	无影响	序列完全重叠 剪切阻断	序列完全重叠 剪切阻断

在不同反应缓冲液中的活性

EZ Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB CutSmart [®] Buffer	Takara QuickCut [™] Buffer
活性 100%	100%	100%	100%

注: 活性数据来自三狮生物限制酶标准反应体系下的检测。

最终解释权所有 ©河北三狮生物科技有限公司, 保留一切权利



网址: www.sanshibio.com
电话: 186-3213-6937
邮箱: sanshibio@126.com