

## 【产品简介】

TOROIVD® 快速内切酶是一系列经过基因工程重组、能够在 5~15 分钟内精确完成 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。TOROIVD® 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，TOROIVD 去磷酸化、连接试剂在 CutUni 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。



同裂酶：Psp124BI, SstI

注：同裂酶对于不同的甲基化修饰也许具有不同敏感性。



## 【产品组成】

TOROIVD® SacI 快速内切酶 (N233156S) 如下：

| 货号       | 组分                      | 规格     |
|----------|-------------------------|--------|
| N233156S | TOROIVD® SacI           | 100 µL |
|          | 10× CutUni Buffer       | 1 mL   |
|          | 10× CutUni Color Buffer | 1 mL   |

## 【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 <sub>2</sub> O                      | 15 µL            | 16 µL             | 30 µL        |
| 10×CutUni Buffer或10×CutUni Color Buffer | 2 µL             | 3 µL <sup>a</sup> | 5 µL         |
| 底物 DNA                                  | 2 µL (up to 1µg) | 10 µL (~0.2 µg)   | 10 µL (5 µg) |
| TOROIVD® SacI                           | 1 µL             | 1 µL              | 5 µL         |
| 总体积                                     | 20 µL            | 30 µL             | 50 µL        |

a. 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× CutUni 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) 37°C 温育 15 min（质粒），或 15~30 min（PCR 产物），或 30~60 min（基因组 DNA）。

4) 80°C 温育 20 min 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 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

| DNA                                     | 1 µg  | 2 µg  | 3 µg  | 4 µg  | 5 µg  |
|-----------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| TOROIVD® SacI                           | 1 µL  | 2 µL  | 3 µL  | 4 µL  | 5 µL  |
| 10×CutUni Buffer或10×CutUni Color Buffer | 2 µL  | 2 µL  | 3 µL  | 4 µL  | 5 µL  |
| 总体积                                     | 20 µL | 20 µL | 30 µL | 40 µL | 50 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。

## 【图标注释】

快速内切酶，可在 5~15 min 内完成反应

最适反应温度为 37°C

失活条件为 80°C 温育 20 min

★ 3 h 温育未表现星号活性, 延时酶切可能出现星号活性

#### 【质量控制】

##### 功能活性检测

最适反应温度下, 在 20  $\mu$ L 反应体系中, 1  $\mu$ L TOROIVD® SacI 能够在 15 min 内完全消化 1  $\mu$ g  $\lambda$ DNA (HindIII digest)。

##### 超长时间温育检测

最适反应温度下, 将 1  $\mu$ L TOROIVD® SacI 与 1  $\mu$ g  $\lambda$ DNA (HindIII digest)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, 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 1  $\mu$ L TOROIVD® SacI 消化底物, 回收酶切产物。在 22℃ 下使用适量 TOROIVD® T4 DNA Ligase(Fast) 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 1  $\mu$ L TOROIVD® SacI 与 1  $\mu$ g 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。

##### 蛋白斑检测

将含有单一 *lacZa*基因的载体以 1  $\mu$ L TOROIVD® SacI 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 TOROIVD®系列限制酶而言, 白色菌落比例应小于 1%。

#### 【储运条件】

-20℃ 保存。

#### 【不同 DNA 中酶切位点数量】

| $\lambda$ DNA | $\Phi$ X174 | pBR322 | pUC57 | pUC18/19 | SV40 | M13mp18/19 | Adeno2 |
|---------------|-------------|--------|-------|----------|------|------------|--------|
| 2             | 0           | 0      | 1     | 1        | 0    | 1          | 16     |

#### 【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   |

#### 【在不同反应缓冲液中的活性】

|    | CutUni Buffer | Thermo Scientific FastDigest Buffer | NEB CutSmart® Buffer | Takara QuickCut™ Buffer |
|----|---------------|-------------------------------------|----------------------|-------------------------|
| 活性 | 100%          | 100%                                | 100%                 | 100%                    |

注: 活性数据来自 TOROIVD 限制酶标准反应体系下的检测。



天罗诊断科技江苏有限公司

网址: [www.toroivd.com](http://www.toroivd.com)

电话: 400-688-2055

邮箱: [market@toroivd.com](mailto:market@toroivd.com)

更多科研产品, 请关注天筛优品微信小程序

