

SuperCut 快速内切酶 SmaI说明书

Cat#: 8052371

【产品名称】

SuperCut 快速内切酶 SmaI

【包装规格】

成品名称	成品货号	规格	组分货号	组分名称	组分规格	数量
SuperCut 快速内切酶 SmaI	8052371	1000 units	8052371-1	SuperCut 快速内切酶 SmaI(10 units/ μ L)	1000 units	1 支
			8052371-2	SuperCut 10 \times Buffer	1 mL	1 支
			8052371-3	6 \times Gel Loading Buffer	1 mL	1 支

【酶切位点】

5'...CCC↓GGG...3'

3'...GGG↑CCC...5'



【产品简介】

SuperCut 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。

SuperCut 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，达优去磷酸化、连接试剂在 SuperCut 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。

【储运条件】

-25~-15 $^{\circ}$ C保存，有效期 24 个月。

蓝冰运输。

【活性定义】

一个单位被定义为在最适反应温度下，50 μ L 反应体系中 60 min 内消化 1 μ g λ DNA 所需酶的量。

【建议反应条件】

1 \times SuperCut Buffer 缓冲液；25 $^{\circ}$ C温育；

参照“DNA 快速酶切流程”配制反应体系。

【失活条件】

1.80 $^{\circ}$ C温育 20 min。2.根据反应体系加入适量 6 \times Gel Loading Buffer，终止反应。

【质量控制】

功能活性检测

最适反应温度下，在 20 μ L 反应体系中，10 units SuperCut 快速内切酶 SmaI 能够在 15 min 内完全消化 1 μ g λ DNA (HindIII digest)。

超长时间温育检测

最适反应温度下，将 10 units SuperCut 快速内切酶 SmaI 与 1 μ g λ 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 10 units SuperCut 快速内切酶 SmaI 消化底物，回收酶切产物。在 22°C 下使用适量 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，使用 10 units SuperCut 快速内切酶 SmaI 与 1 μ 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。

蓝白斑检测

将含有单一 *lacZ α* 基因的载体以 10 units SuperCut 快速内切酶 SmaI 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 SuperCut 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
底物 DNA ^a	$\leq 1 \mu\text{g}$	$\leq 0.2 \mu\text{g}$	$\leq 5 \mu\text{g}$
SuperCut 快速内切酶 SmaI	10 units	10 units	30~50 units
SuperCut 10 \times Buffer	2 μ L	3 μ L	5 μ L
ddH ₂ O	To 20 μ L	To 30 μ L	To 50 μ L

a. DNA 底物中应不含苯酚、氯仿、乙醇、EDTA、洗涤剂或高浓度盐，否则将会影响酶的活性；甲基化的 DNA 会抑制某些限制性内切酶酶切反应。

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 25°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；或者根据反应体系加入适量 6 \times Gel Loading Buffer，终止反应。

2. 双酶切或多酶切

① 每种快速内切酶的用量为 10 units，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，如 SmaI（推荐反应温度 25°C），热失活第一种酶后再添加第二种酶，在其最适反应温度下进行反应。

注：如果总反应体系大于 20 μ L，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
3	0	0	1	1	0	1	12

【甲基化修饰影响】

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

【在不同反应缓冲液中的活性】

	SuperCut Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB CutSmart® Buffer	Takara QuickCut™ Buffer
活性	100%	100%	100%	100%

注：活性数据来自达优限制酶标准反应体系下的检测。

【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 25°C
-  受 CpG 甲基化影响，序列完全重叠，剪切阻断
-  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

【产品标签符号说明】

产品标签符号	说明	产品标签符号	说明
	产品编号		批次代码
	生产日期		制造商
	有效期		温度极限
	避光保存		查阅使用说明

【说明书修改日期】

2024.04.24

【公司信息】

生产企业：北京行健雅生物技术有限公司（该产品由深圳市达科为生物工程有限公司监制）

网址：www.dakewe.com

电话：010-57794997

邮箱：xing_jianya@dakewe.net

地址：北京市大兴区中关村科技园区大兴生物医药产业基地华佗路 50 号院 1 号楼 301