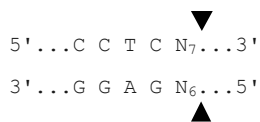


快速内切酶 MnlI

REF: MD051



建议反应条件

1× Reaction 缓冲液；
37°C温育；
参照“DNA 快速酶切流程”配制反应体系。

失活条件： 80°C 温育 20 min。

产品组成

组分 / 规格	MD051-50Rxns	Storage
快速内切酶 MnlI	50 µl	-20°C
10× Reaction Buffer	1 ml	-20°C
10× Reaction Color Buffer	1 ml	-20°C

产品说明

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。快速内切酶 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，伊势久去磷酸化、连接试剂在 Reaction 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。

使用方法

1. DNA 快速酶切流程

①冰上按照下表配制反应体系：

	质粒 DNA	PCR 产物	基因组 DNA
ddH ₂ O	15µl	16µl	30µl
10× Reaction Buffer 或 10× Reaction Color Buffer	2µl	3 µl ^a	5µl
底物 DNA	2 µl (up to 1 µg)	10 µl (~0.2 µg)	10 µl (5 µg)
快速内切酶 MnlI	1µl	1µl	5µl
Total	20µl	30µl	50µl

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× Reaction 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；
- 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。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司

江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号



服务热线：0518-81263339

官网：<http://www.bio149.com>

3. 适用于质粒的扩大反应体系

DNA	1 µg	2 µg	3 µg	4 µg	5 µg
快速内切酶 MnlI	1 µl	2 µl	3 µl	4 µl	5 µl
10× Reaction Buffer 或 10× Reaction Color Buffer	2 µl	2 µl	3 µl	4 µl	5 µl
Total	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。

质量控制

质控项目	质控标准
功能活性检测	最适反应温度下，在 20 µl 反应体系中，1 µl 快速内切酶 MnlI 能够在 15 min 内完全消化 1 µg λDNA。
星号活性测试	最适反应温度下，将 1 µl 快速内切酶 MnlI 与 1 µg λDNA 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 µl 快速内切酶 MnlI 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，使用 1 µl 快速内切酶 MnlI 与 1 µg 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。

不同 DNA 中的酶切位点数量

λDNA	ΦX174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
262	34	26	14	13	51	61	397

甲基化修饰影响

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
无影响	无影响	无影响	无影响	序列可能重叠 剪切阻断

在不同反应缓冲液中的活性

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

▲注：活性数据来自 BIOISCO 限制酶标准反应体系下的检测。

