ClaI

产品货号	G05F111S	贮存条件
产品规格	50T	-20℃
ClaI	50μL	-20℃
10×Buffer	120μL	-20℃
10×Color Buffer	120μL	-20℃

【产品介绍】

本产品 ClaI 为经过基因工程重组的快速内切酶,可以在 5～15min 内精确完成 DNA 切割。适用于质粒 DNA、PCR 产物或基因组 DNA 等的快速酶切。

本产品 ClaI 快速内切酶具有如下特点:

- 5～15min 内即可完成酶切反应;
- 共用同一种酶切 Buffer, 大大简化酶切反应体系;
- 优异的酶活冗余度, 轻松应对底物过量或困难模板酶切;
- 去磷酸化、连接试剂在本酶切 Buffer 中具有 100%活性,支持一管化反应, 完成“酶切 - 修饰 - 连接”过程。

【产品信息】

- **酶切位点:**

```
      ▼
5'...A T C G A T...3'
3'...T A G C T A...5'
          ▲
```

- **最适反应温度:37℃**
- **失活条件:80℃孵育 20min**
- **受 Dam 甲基化影响, 序列可能重叠, 剪切阻断**
- **受 CpG 甲基化影响, 序列完全重叠, 剪切阻断**
- **受 EcoBI 甲基化影响, 序列可能重叠, 剪切可能受阻**
- **Dcm、EcoKI 甲基化修饰无影响**
- **同裂酶:BspDI, BanIII, Bsa29I, BseCI, BshVI, BsiXI, Bsp106I, BspXI, Bsu15I, BsuTUI, ZhoI**
- **3 h 温育未表现星号活性, 延时酶切可能出现星号活性**

【使用方法】

1. **DNA 快速酶切流程**

① 在低温冰盒上建立如下体系:

试剂	质粒 DNA	PCR 产物	基因组 DNA
ddH_2O	15μL	16μL	30μL
10×Buffer 或 10×Color Buffer	2 μL	3 μL[a]	5 μL
底物 DNA	2 μL (～1μg)	10μL (～0.2μg)	10μL (～5μg)
ClaI	1 μL	1 μL	5 μL
总计	To 20μL	To 30μL	To 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×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 轻轻反复吸打以混匀(切勿涡旋), 然后瞬时离心;

③ 在37℃孵育15 min（质粒），或15～30 min（PCR产物），或30～60 min（基因组DNA）；

④ 在80℃温育 20 min即可使酶失活，停止反应（可选）。

2. 双酶切/多酶切

- 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；
- 所有快速内切酶的体积总和不得超过总反应体系的1/10；
- 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。

【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 ClaI 能够在15 min内完全消化1μg λDNA (Dam-)。

- **超长时间温育检测**

  最适反应温度下，将1μL ClaI 与1μg λDNA (Dam-)共同温育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 ClaI 消化底物，回收酶切产物，在22℃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 ClaI 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。

【注意事项】

- 本产品在-20℃下可贮存一年。
- 本产品为快切内切酶，不适合过夜酶切。
- 本产品在常见其它厂家反应缓冲液中的活性为100%。
- 仅用于科学研究用途。

【相关产品】

货号	产品名称	规格
G05F200	T4 Ligase	200U/1000U
G05F117	DpnI	50T
G05F118	DpnII	50T
G05F123	EagI	25T
G05F131	EcoRI	250T/500T

Version：20190106（第一版）