Monad
莫纳生物

For Research Use Only
Version 2.0

FlashCut™ TaqI

REF: MF02801

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

同裂酶：TthHB8I

⚠注： 同裂酶对于不同的甲基化修饰也许具有不同敏感性。

储运条件

-20℃

产品组成

组分 / 规格	MF02801S
FlashCut™ TaqI	100 μl
10× FlashOne™ Buffer	250 μl
10× FlashOne™ Color Buffer	250 μl
6× Loading Buffer	500 μl

产品简介

FlashCut™ 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。FlashCut™ 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，莫纳去磷酸化、连接试剂在 FlashOne™ 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。

建议反应条件

1× FlashOne™ 缓冲液；
65℃温育；
参照“DNA 快速酶切流程”配制反应体系。

失活条件

不可热失活，请使用酚氯仿抽提或柱纯化。

质量控制

功能活性检测

最适反应温度下，在 20 μl 反应体系中，1 μl FlashCut™ TaqI 能够在 15 min 内完全消化 1 μg λDNA (Dam^{-}) 。

超长时间温育检测

最适反应温度下，将 1 μl FlashCut™ TaqI 与 1 μg λDNA (Dam^{-}) 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 μl FlashCut™ TaqI 消化底物，回收酶切产物。在 22 ℃下使用适量 MonClone™ 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 1 μl FlashCut™ TaqI 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。

图标注释

⚡ 快速内切酶，可在 5~15 min 内完成反应
65 最适反应温度为 65℃
Dam 受 Dam 甲基化影响，序列可能重叠，剪切阻断
No 不可热失活
★ 3 h 温育未表现星号活性，延时酶切可能出现星号活性

400-928-3698
莫纳生物科技有限公司
Monad Biotech Co., Ltd.
E-mail: support@monadbiotech.com
Web: www.monadbiotech.com

Simply Discover More

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_2O	15 µl	16 µl	30 µl
10× FlashOne™ Buffer 或 10× FlashOne™ Color Buffer	2 µl	3 µl[a]	5 µl
底物 DNA	2 µl (up to 1 µg)	10 µl (~0.2 µg)	10 µl (5 µg)
FlashCut™ TaqI	1 µl	1 µl	5 µl
Total	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× FlashOne™ 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 65℃温育 15 min（质粒），或 15~30 min（PCR 产物），或 30~60 min（基因组 DNA）；
④ 酚氯仿抽提或柱纯化（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
FlashCut™ TaqI	1 µl	2 µl	3 µl	4 µl	5 µl
10× FlashOne™ Buffer 或 10× FlashOne™ 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。

不同 DNA 中的酶切位点数量

λDNA	ΦX174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
121	10	7	4	4	1	12	50

甲基化修饰影响

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

在不同反应缓冲液中的活性

	Monad FlashOne™ Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB CutSmart® Buffer	Takara QuickCut™ Buffer
活性	100%	100%	无此酶	100%

⚠ 注：活性数据来自 Monad 限制酶标准反应体系下的检测。

注意事项：

酶切后进行琼脂糖凝胶电泳验证时，建议添加上样体积 1/5 的 6× Loading Buffer 至 Loading Buffer 终浓度为 1×，可以有效地分离酶与核酸，避免跑胶条带异常。