

FlyCut® SmaI SmaI快速内切酶

使用前请仔细阅读说明书

目录号: JS501

版本号: Version 1.0

保存: -18℃及其以下温度下保存两年。

浓度: 20000 units/ml

识别位点

5'...CCC▼GGG...3'

3'...GGG▲CCC...5'

产品说明

本产品由重组SmaI基因的载体，在大肠杆菌中经诱导表达、纯化而成，分子量大小为29.7 kDa，识别位点为：CCC^GGG。反应温度为25℃，热失活条件为65℃加热20分钟。对dam，dcm甲基化不敏感，对哺乳动物DNA的CpG甲基化敏感。

特点

- 5分钟快切。
- 通用缓冲液。
- 无星号活性。

适用范围

基因组DNA，质粒DNA，PCR产物。

产品组成

Component	JS501-01	JS501-02
FlyCut® SmaI	1000 units	2×1000 units
10×FlyCut® Buffer	250 µl	500 µl
10×DNA Loading Buffer	1 ml	1 ml

活性定义

1单位是指50 µl反应体系中，25℃时1小时完全消化1 µg λDNA所需的酶量。

质量控制

连接和再切: 10倍过量FlyCut® SmaI消化，95%以上的DNA片段能够在25℃条件下用T4 DNA连接酶连接，连接后的片段95%可以被切开。

16小时孵育: 10单位酶在50 µl反应体系中与1 µg DNA孵育16小时，效果与1单位酶孵育1小时的带型一样。

酶切末端完整性: 酶切、连接含LacZα基因(唯一位点)的质粒转化于涂有X-gal/IPTG的平板上，β-半乳糖苷酶的成功表达是检测基因在克隆后保持完整性的标准。蓝色菌落表示基因的完整，白色菌落表示基因被破坏，经酶消化后的白色菌落必须少于3%。

核酸外切酶活性: 50 µl反应体系中，100单位酶与1 µg ³H标记的DNA (PCR纯化产物)，在37℃条件下，孵育4小时，释放不超过0.1%的放射性物质。

核酸内切酶活性: 50 µl反应体系中，15单位酶与1 µg pBR322 DNA在37℃条件下，孵育4小时，RFI型转变为RFII型的比例不超过10%。

酶贮存缓冲液

20 mM Tris-HCl pH 7.4, 250 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 1.5 mM DTT, 400 µg/ml BSA, 50% Glycerol

10×FlyCut® Buffer

500 mM Tris-Ac pH 7.9, 1 M KAc, 120 mM MgAc₂, 1 mg/ml BSA



推荐单酶切反应体系

Component	Volume	Volume
DNA	≤1 µg	1-2 µg
10× <i>FlyCut</i> [®] Buffer	2 µl	5 µl
<i>FlyCut</i> [®] SmaI	0.5 µl	1 µl
Nuclease-free Water	Variable	Variable
Total volume	20 µl	50 µl

使用前请将*FlyCut*[®] Buffer充分混匀；

酶切不完全或酶切2 µg以上的DNA时，适当增加酶量，但总酶量不超过体系的1/10。

不同DNA由于其结构不同会导致酶切的效果不同，因此可根据酶切效果调整反应时间。

反应条件

25℃孵育5-15分钟；终止反应时，可加入10×DNA Loading Buffer至终浓度1×，或者65℃加热20分钟。

推荐双酶切反应体系

Component	Volume
DNA	≤2 µg
10× <i>FlyCut</i> [®] Buffer	5 µl
<i>FlyCut</i> [®] Enzyme I	1 µl
<i>FlyCut</i> [®] Enzyme II	1 µl
Nuclease-free Water	Variable
Total volume	50 µl

使用前请将*FlyCut*[®] Buffer充分混匀；

酶切不完全或酶切2 µg以上的DNA时，适当增加酶量，但总酶量不超过体系的1/10。

不同DNA由于其结构不同会导致酶切的效果不同，因此可根据酶切效果调整反应时间。

反应条件

在推荐反应温度下，孵育5-15分钟。终止反应时，可加入10×DNA Loading Buffer至终浓度为1×，或者加热失活。

如果两种酶反应温度不同，参考“双酶切反应注意事项”。

双酶切反应注意事项

FlyCut[®] Buffer能使任意两种酶在其中保证100%活性并降低星号活性的影响。

- 按照推荐条件建立反应体系。反应体系中甘油的浓度应<5%以避免星号活性。例如：50 µl反应体系中总酶量不超过5 µl。
- 在推荐反应温度、时间下孵育，双酶切反应不建议孵育过夜。
- 如果两种酶反应温度不同，加入第一种酶在推荐的温度下孵育，如SmaI (推荐反应温度25℃)，热失活第一种酶后再加入第二种酶，按推荐温度孵育。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1-202008

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

