

FuniCut® FokI

产品简介

FuniCut®系列内切酶是通过基因工程重组技术,可在5~15 min内精确完成DNA切割的快速限制性内切酶,适用于快速切割质粒DNA、PCR产物、基因组DNA等。FuniCut®系列快速内切酶共用一种酶切缓冲液,从而简化了酶切反应体系,另外,有良好的酶活冗余度,可轻松处理底物过量或困难模板的酶切。

产品信息

货号	15083ES60
规格	100 T
识别位置	5'-GGATG(N) ₉ ↓ -3' 3'-CCTAC(N) ₁₃ ↓ -5'
推荐反应条件	1×FuniCut® 缓冲液; 37°C 孵育
酶活	5 U/μL
失活条件	80°C孵育 20 min
同裂酶	BstF5I, BtsCI, BseGI

组分信息

组分编号	组分名称	15083ES60
15083-A	FuniCut® FokI	100 μL
15083-B	10×FuniCut® Buffer	1 mL
15083-C	10×FuniCut® Color Buffer*	1 mL

*10×FuniCut® Color Buffer 包括红色和黄色示踪染料,可将产物直接用于凝胶电泳。FuniCut® Color Buffer 的红色染料与2500 bp双链DNA片段在1%琼脂糖凝胶中迁移速率接近;黄色染料与10 bp双链DNA片段在1%琼脂糖凝胶中迁移速率接近。

储存条件

-25~-15°C保存,有效期2年。

注意事项

1. 对于被Dcm甲基化的DNA,剪切可能受阻。
2. 对于被CpG甲基化的DNA,剪切可能受阻。
3. 对于被EcoBI甲基化的DNA,剪切可能受阻。
4. 3 h 孵育未表现星号活性,延时酶切可能出现星号活性。
5. 本产品仅作科研用途。
6. 为了您的安全和健康,请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

使用方法

1. DNA 快速酶切流程

1) 按如下建议的加样顺序配制体系反应液（冰上操作）

组分	质粒 DNA	PCR 产物	基因组 DNA
ddH ₂ O	15 μL	16 μL	30 μL
10×FuniCut® Buffer 或 10×FuniCut® Color Buffer	2 μL	3 μL*	5 μL
底物 DNA	2 μL (~1 μg)	10 μL (~0.2 μg)	10 μL (5 μg)
FuniCut® FokI	1 μL	1 μL	5 μL
Total	20 μL	30 μL	50 μL

*本体系指已纯化后的 PCR 产物。未纯化的 PCR 产物具备一定的离子强度，10×FuniCut® Buffer 加入量可适当减少至 2 μL。若下一步进行克隆等实验，酶切前需纯化 PCR 产物。

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 孵育 15 min（质粒），或 15~30 min（PCR 产物），或 30~60 min（基因组 DNA）。

4) 80°C 孵育 20 min 即可使酶失活，停止反应（可选）。

5) 如果使用 FuniCut® Color Buffer 进行酶切反应，得到的产物可直接上样电泳。

2. 双酶切或多酶切

1) 每种内切酶的用量为 1 μL，并根据需要适当扩大反应体系。

2) 所有内切酶的体积总和不得超过总反应体系的 1/10。

3) 如果选用的几种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，以较高的温度进行孵育。

3. 质粒的扩大反应体系

组分	体积 (20 μL)	体积 (20 μL)	体积 (50 μL) *
DNA	1 μg	2 μg	5 μg
10×FuniCut® Buffer 或 10×FuniCut® Color Buffer	2 μL	2 μL	5 μL
FuniCut® FokI	1 μL	2 μL	5 μL
Total	20 μL	20 μL	50 μL

*如果总反应体系大于 20 μL，可使用水浴、金属浴或沙浴，并增加孵育时间。

4. 不同 DNA 中的识别位点数

λDNA	ΦX174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
150	8	12	5	5	11	4	78

5. 甲基化修饰影响

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
无影响	剪切受影响	剪切受影响	无影响	剪切受影响

6. 不同反应缓冲液中的活性*

反应缓冲液	FuniCut® Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB CutSmart® Buffer	Takara QuickCut™ Buffer
活性	100%	50%	100%	50%

*活性数据来自翌圣生物限制酶标准反应体系下的检测。