

## FuniCut® EagI

### 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	15009ES25
规格	25 T
识别位置	5'-C ↓ GGCCG-3' 3'-GCCGG ↑ C-5'
推荐反应条件	1×FuniCut® 缓冲液；最适 37°C 孵育
酶活	20 U/μL
失活条件	80°C 孵育 20 min
同裂酶	BseX3I, BstZI, EclXI, Eco52I, XmaIII

### 组分信息

组分编号	组分名称	15009ES25
15009-A	FuniCut® EagI	25 μL
15009-B	10×FuniCut® Buffer	1 mL
15009-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

- 3 h 孵育未表现星号活性，延时酶切可能出现星号活性。
- 受 CpG 甲基化影响，序列完全重叠，剪切阻断。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
- 本产品仅作科研用途。

## 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 <sub>2</sub> 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® EagI	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® EagI	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
2	0	1	0	0	0	0	19

### 5. 甲基化修饰影响

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
无影响	无影响	序列完全重叠, 剪切阻断	无影响	无影响

### 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%	100%	100%	100%

\*活性数据来自翌圣生物限制酶标准反应体系下的检测。