使用前请仔细阅读说明书 **版本号：202201**

LightSpeed 系列 BamHI

目录号：EZ22004S 规格：500T 保存：-20°C保存及运输，有效期至少一年。

产品简介：

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

LightSpeed 系列 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。LightSpeed 系列 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，去磷酸化、连接试剂在 EZ 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。

试剂内容：

组分	规格
LightSpeed 系列 BamHI	500μL
10× EZ Buffer	3*1mL
10× EZ Color Buffer	3*1mL

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 LightSpeed 系列 BamHI 能够在 15min 内完全消化 1μg λDNA。

超长时间温育检测

最适反应温度下，将 1μl LightSpeed 系列 BamHI 与 1μg λDNA 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，将 1μl LightSpeed 系列 BamHI 与 1μg λDNA 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。

非特异性内切酶活性检测

最适反应温度下，将 1μl LightSpeed 系列 BamHI 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。

蓝白斑检测

将含有单一lacZα基因的载体以1μl LightSpeed 系列 BamHI消化，重新连接后转化入大肠杆菌感受态细胞，涂布在含有对应抗生素、IPTG 和 X-gal 的 LB 培养基平板上。连接正确的产物会生长出蓝色菌落，而连接错误（即 DNA 末端切口不完整）的产物将得到白色菌落。对于 LightSpeed 系列 限制酶而言，白色菌落比例应小于 1%

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	15μl	16μl	30μl
10× EZ Buffer 或 10× EZ Color Buffer	2μl	3μl	5μl
底物 DNA	2μl (up to 1μg)	10μl (~0.2μg)	10μl (5μg)
LightSpeed 系列 BamHI	1μl	1μl	5μl
Total	20μl	30μl	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× EZ 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；

③37℃温育 15min（质粒），或 15~30min（PCR 产物），或 30~60min（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 1μl，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	1μg	2μg	3μg	4μg	5μg
LightSpeed 系列 BamHI	1μL	2μL	3μL	4μL	5μL
10× EZ Buffer 或 10× EZ Color Buffer	2μL	2μL	3μL	4μL	5μL
Total	20μL	20μL	30μL	40μL	50μL

注：如果总反应体系大于 20μL，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
5	0	1	1	1	1	1	3

甲基化修饰影响

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
无影响	无影响	无影响	无影响	无影响

在不同反应缓冲液中的活性

	EZ Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB CutSmart® Buffer	Takara QuickCut™ Buffer
活性	100%	100%	100%	100%

注：活性数据来自三狮生物限制酶标准反应体系下的检测。

最终解释权所有©河北三狮生物科技有限公司，保留一切权利