

快速内切酶 KpnI

货号: Q2080

规格: 200T

保存: -20℃保存, 有效期 2 年。



产品组成:

组分	200T	Storage
快速内切酶 KpnI	200 µl	-20℃
10× Reaction Buffer	1 ml	-20℃
10× Reaction Color Buffer	1 ml	-20℃

产品说明:

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。快速内切酶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 Reaction 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× Reaction 缓冲液; 37℃温育; 参照“DNA 快速酶切流程”配制反应体系。

失活条件: 80℃ 温育 20 min。

产品应用:

1. DNA 快速酶切流程

①冰上按照下表配制反应体系:

	质粒 DNA	PCR 产物	基因组 DNA
ddH ₂ O	15µl	16µl	30µl
10× Reaction Buffer 或 10× Reaction Color Buffer	2µl	3 µl	5µl
底物 DNA	2 µl (up to 1 µg)	10 µl (~0.2 µg)	10 µl (5 µg)
快速内切酶 KpnI	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× Reaction 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;

- ③ 37℃温育 15 min（质粒），或 15~30 min（PCR 产物），或 30~60 min（基因组 DNA）；
- ④ 80℃温育 20 min 即可使酶失活，停止反应（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
快速内切酶 KpnI	1μl	2μl	3μl	4μl	5μl
10× Reaction Buffer 或 10× Reaction Colo Buffer	2μl	2μl	3μl	4μl	5μl
Total	20μl	20μl	30μl	40μl	50μl

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。

质量控制

质控项目	质控标准
功能活性检测	最适反应温度下，在 20 μl 反应体系中，1 μl 快速内切酶 KpnI 能够在 15 min 内完全消化 1 μg λDNA 。
星号活性测试	最适反应温度下，将 1 μl 快速内切酶 KpnI 与 1 μg λDNA 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 1 μl 快速内切酶 KpnI 消化底物，回收酶切产物。在 22 ℃下使用适量 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，使用 1 μl 快速内切酶 KpnI 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。
蓝白斑检测	将含有单一 lacZα 基因的载体以 1 μl KpnI 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 Reaction 系列限制酶而言，白色菌落比例应小于 1%。

不同 DNA 中的酶切位点数量

λ DNA	Φ X174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
2	0	0	1	1	1	1	8

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

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

注：活性数据来自 BIOISCO 限制酶标准反应体系下的检测。