快速内切酶 HindIII

REF: SB-EGR439S

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

37 EB 80℃ ★

储运条件

-20℃

产品组成

组分	规格
圣尔 HindIII	500 μl
10× 酶切 Buffer	3×1 ml
10× 酶切 Color Buffer	3×1 ml

产品简介

圣尔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。圣尔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，圣尔生物去磷酸化、连接试剂在酶切 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。

建议的反应条件

1× 酶切缓冲液；
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。

质量控制

功能活性检测

最适反应温度下，在 20 μl 反应体系中，1 μl 圣尔 HindIII 能够在 15 min 内完全消化 1 μg λDNA。

超长时间温育检测

最适反应温度下，将 1 μl 圣尔 HindIII 与 1 μg λDNA 共温育 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 圣尔 HindIII 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，将 1 μl 圣尔 HindIII 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 圣尔 HindIII 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 圣尔系列限制酶而言，白色菌落比例应小于 1%。

图标注释

⚡快速内切酶，可在 5~15 min 内完成反应

37 最适反应温度为 37℃

EB 受 EcoBI 甲基化影响，序列可能重叠，剪切受阻

80℃ 失活条件为 80℃ 温育 20 min

★ 3 h 温育未表现星号活性，延时酶切可能出现星号活性

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	15 μl	16 μl	30 μl
10× 酶切 Buffer 或 10× 酶切 Color Buffer	2 μl	3 μl[a]	5 μl
底物 DNA	2 μl (up to 1 μg)	10 μl (~0.2 μg)	10 μl (5 μg)
圣尔 HindIII	1 μl	1 μl	5 μl
Total	20 μl	30 μl	50 μl

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× 酶切 Buffer 加入量可适当减少至 2 μl。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
圣尔 HindIII	1 μl	2 μl	3 μl	4 μl	5 μl
10× 酶切 Buffer 或 10× 酶切 Color Buffer	2 μl	2 μl	3 μl	4 μl	5 μl
Total	20 μl	20 μl	30 μl	40 μl	50 μl

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。

不同 DNA 中的酶切位点数量

λDNA	ΦX174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
6	0	1	1	1	6	1	12

甲基化修饰影响

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
无影响	无影响	无影响	无影响	序列可能重叠 剪切受阻

在不同反应缓冲液中的活性

	酶切 Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB CutSmart® Buffer	Takara QuickCut™ Buffer
活性	100%	75%	100%	100%

注：活性数据来自圣尔生物限制酶标准反应体系下的检测。