

## BeyoFast™ EcoRI (试用装)

产品编号	产品名称	包装
D5705FT	BeyoFast™ EcoRI (试用装)	20μl

### 产品简介:

- 碧云天生产的BeyoFast™系列快速内切酶是一系列经过基因工程重组、能够在5-15分钟内仅使用一种缓冲液就能快速完成DNA酶切的高品质限制性内切酶。
- BeyoFast™系列快速内切酶适用于质粒DNA、PCR产物或基因组DNA等的快速酶切。
- BeyoFast™系列快速内切酶具有如下优点。(1) 5-15分钟内就能完成酶切；(2) 所有BeyoFast™系列内切酶共用一种酶切缓冲液CutEZ™ Buffer，大大简化酶切反应体系，方便进行双酶切或多酶切；(3) 针对不同酶在CutEZ™ Buffer中活性存在差异的问题，调整了不同酶的浓度，可以统一按照每20μl体系加入1μl酶量的用量进行酶切反应；(4) Alkaline Phosphatase、Antarctic Phosphatase、T4 DNA Ligase、T4 Polynucleotide Kinase、T4 PNK (3' phosphatase minus)等很多修饰酶等都100%兼容CutEZ™ Buffer (具体的兼容性表请参考<https://www.beyotime.com/product/D6018.htm>)，使‘酶切-连接’和‘酶切-修饰-连接’等反应体系可以兼容，支持一管化反应；(5) 良好的酶活冗余度，轻松应对底物过量或困难模板酶切。
- **酶活性检测:** 最适反应温度下，在20μl反应体系中，1μl BeyoFast™ EcoRI能够在15min内完全消化1μg含有单个EcoRI酶切位点的质粒。



图1. 碧云天生产的BeyoFast™ EcoRI (D5705)酶活性实测效果图。20μl反应体系中包含1μg pUC18 (D2303) (2686bp)，以及如图所示不添加或添加1μl BeyoFast™ EcoRI，分别使用1X CutEZ™ Buffer和1X Easy-Load™ CutEZ™ Buffer，37°C孵育15分钟进行酶切反应，随后65°C孵育20分钟使酶失活，然后电泳并使用NA-Red (EB升级换代产品，2000X) (D0128/D0130)进行核酸染色，再进行荧光成像分析。所使用的DNA marker为DNA Ladder (0.2-12 kb, 12 bands) (D0110)。实际检测效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异，图中效果仅供参考。

- **长时间酶切检测:** 最适反应温度下，将1μl BeyoFast™ EcoRI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，使用1μl BeyoFast™ EcoRI消化底物，回收酶切产物，在22°C下使用适量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1μl BeyoFast™ EcoRI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 BeyoFast™ EcoRI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BeyoFast™系列限制酶而言，白色菌落比例应小于1%。

➤ BeyoFast™ EcoRI快速内切酶基本信息如下：

识别序列	同裂酶	酶切温度	失活条件	甲基化干扰？
5'-G <sup>^</sup> AATTC-3' 3'-CTTAA <sup>^</sup> G-5'	FunII	37°C	65°C 20min	有时有干扰

➤ BeyoFast™ EcoRI快速内切酶在不同反应缓冲液中的活性(缓冲液兼容性)如下：

Beyotime CutEZ™ Buffer	Beyotime Easy-Load™ CutEZ™ Buffer	Thermo FastDigest Buffer	NEB CutSmart® Buffer	Takara QuickCut™ Buffer
100%	100%	100%	100%	100%

注：活性数据来自碧云天BeyoFast™系列快速内切酶的标准反应体系下的检测。

➤ BeyoFast™ EcoRI快速内切酶识别位点的甲基化影响请参考下表：

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

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D5705FT	BeyoFast™ EcoRI	20μl
D6018-500μl	10X CutEZ™ Buffer	500μl
D6020-500μl	Easy-Load™ 10X CutEZ™ Buffer	500μl
—	说明书	1份

保存条件：

-20°C保存，两年有效。

注意事项：

- 内切酶使用时宜存放在冰盒内或冰浴上，使用完毕后宜立即放置于-20°C保存。
- 不含核酸酶的超纯水推荐选购碧云天的ST876 BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)。
- 如果发现预期的酶切位点不能切开，请确认是否存在甲基化干扰问题。
- 同裂酶对于不同的甲基化修饰可能具有不同敏感性，遇到可能存在甲基化干扰问题时，可以尝试同裂酶。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 单酶切时可以参考如下反应体系，在冰浴上进行操作。

Reagent	Plasmid DNA	PCR Product	Genomic DNA
Ultrapure Water	(17-x)μl	(26-x)μl	(40-x)μl
10X CutEZ™ Buffer or Easy-Load™ 10X CutEZ™ Buffer	2μl	3μl	5μl
Substrate DNA	xμl(up to 1μg)	xμl(~0.2μg)	xμl(5μg)
BeyoFast™ EcoRI	1μl	1μl	5μl
Total volume	20μl	30μl	50μl
Incubate at 37°C	15min	15-30min	30-60min

注：上述反应体系适用于经过纯化的PCR产物酶切。未纯化的PCR产物有一定的离子强度和pH，10X CutEZ™ Buffer加入量可适当减少至2μl。但由于很多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连接、克隆等操作，建议酶切前对PCR产物进行纯化。

- 参考上表依次加入各种液体后，用移液器轻柔吸打或轻弹管壁以混匀(切勿涡旋混合)，然后瞬时离心以沉降液体至管底。
  - 37°C温育15min(质粒)，或15-30min(PCR产物)，或30-60min(基因组DNA)。酶切反应时优先推荐使用水浴，反应温度通常更加恒定一些。
  - 65°C温育20min即可使酶失活并停止反应(可选)。
2. 双或多酶切时可以在参考上表单酶切反应体系设置的基础上，参考如下原则设置反应体系。
- 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。
  - 所有快速内切酶的总体积总和不得超过总反应体系的1/10。
  - 如果所用的几种快速内切酶的最适反应温度不同，应先从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。

参考文献：

1. Cheng SC, Kim R, King K, Kim SH, Modrich P. J Biol Chem. 1984. 259(18):11571-5.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D5601-200μl	BeyoFast™ ApaLI	200μl
D5609-50μl	BeyoFast™ AscI	50μl
D5617-25μl	BeyoFast™ AvrII	25μl
D5625-500μl	BeyoFast™ BamHI	500μl
D5633-125μl	BeyoFast™ BclI	125μl
D5641-100μl	BeyoFast™ BglII	100μl
D5649-50μl	BeyoFast™ BsaI	50μl
D5653-20μl	BeyoFast™ BspQI	20μl
D5657-100μl	BeyoFast™ BstBI	100μl
D5665-100μl	BeyoFast™ BstEII	100μl
D5673-50μl	BeyoFast™ ClaI	50μl
D5681-50μl	BeyoFast™ DpnI	50μl
D5689-50μl	BeyoFast™ DpnII	50μl
D5692-200μl	BeyoFast™ DraI	200μl
D5697-25μl	BeyoFast™ EagI	25μl
D5705-600μl	BeyoFast™ EcoRI	600μl
D5713-200μl	BeyoFast™ EcoRV	200μl
D5721-30μl	BeyoFast™ Esp3I (BsmBI)	30μl
D5729-50μl	BeyoFast™ FspI	50μl
D5737-500μl	BeyoFast™ HindIII	500μl
D5745-500μl	BeyoFast™ HinfI	500μl
D5753-50μl	BeyoFast™ HpaI	50μl
D5761-30μl	BeyoFast™ KasI	30μl
D5769-200μl	BeyoFast™ KpnI	200μl
D5777-100μl	BeyoFast™ MluI	100μl
D5785-50μl	BeyoFast™ MnlI	50μl
D5789-200μl	BeyoFast™ MspI	200μl
D5793-30μl	BeyoFast™ NcoI	30μl
D5801-200μl	BeyoFast™ NdeI	200μl
D5809-30μl	BeyoFast™ NheI	30μl
D5817-50μl	BeyoFast™ NotI	50μl
D5825-50μl	BeyoFast™ NruI	50μl
D5833-25μl	BeyoFast™ NsiI	25μl
D5841-25μl	BeyoFast™ PacI	25μl
D5847-50μl	BeyoFast™ PmeI	50μl
D5849-500μl	BeyoFast™ PstI	500μl
D5857-200μl	BeyoFast™ PvuII	200μl
D5865-100μl	BeyoFast™ SacI	100μl
D5873-50μl	BeyoFast™ SacII	50μl
D5881-200μl	BeyoFast™ SalI	200μl
D5885-20μl	BeyoFast™ SapI	20μl
D5889-25μl	BeyoFast™ SbfI	25μl
D5897-100μl	BeyoFast™ SfiI	100μl
D5905-100μl	BeyoFast™ SmaI	100μl
D5913-50μl	BeyoFast™ SpeI	50μl
D5921-50μl	BeyoFast™ SphI	50μl
D5929-60μl	BeyoFast™ SspI	60μl
D5937-100μl	BeyoFast™ StuI	100μl

D5945-200μl	BeyoFast™ TaqI	200μl
D5953-500μl	BeyoFast™ XbaI	500μl
D5958-50μl	BeyoFast™ XcmI	50μl
D5961-500μl	BeyoFast™ XhoI	500μl
D6055S/M/L/XL	BamHI	10kU/40kU/200kU/800kU
D6128S/M/L/XL	BsaI	1kU/5kU/20kU/200kU
D6132S/M/L/XL	BspQI	400U/2kU/10kU/40kU
D6257S/M/L/XL	DpnI	500U/2.5kU/10kU/50kU
D6272S/M/L	DraI	4kU/20kU/100kU
D6333S/M/L/XL	EcoRI	10kU/40kU/200kU/800kU
D6339S/M/L/XL	EcoRV	4kU/20kU/100kU/400kU
D6392S/M/L/XL	HindIII	10kU/40kU/200kU/1000kU
D6418S/M	KpnI	4kU/20kU
D6470S/M/L/XL	MspI	4kU/20kU/100kU/500kU
D6482S/M/L/XL	NcoI	800U/4kU/20kU/100kU
D6486S/M/L	NdeI	4kU/20kU/100kU
D6498S/M/L/XL	NotI	1kU/4kU/20kU/100kU
D6542S/M/L/XL	PmeI	800U/4kU/20kU/100kU
D6590S/M/L/XL	SapI	400U/2kU/10kU/40kU
D6635S/M/L/XL	SmaI	2kU/10kU/40kU/200kU
D6715S/M/L	XbaI	10kU/40kU/200kU
D6718S/M/L/XL	XcmI	1kU/4kU/20kU/100kU

Version 2023.09.28