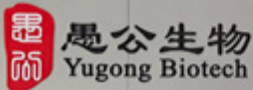


限制酶实用手册

Practical Handbook of Restriction Endonuclease

2024 版





聚焦精准医学
创造酶好生活

江苏愚公生物科技有限公司
Yugong Biotech Co., Ltd.

公司简介

江苏愚公生物科技有限公司（简称“愚公生物”）致力于解决国内生物医药高端原料酶和工具酶“卡脖子”现状，为中国生物医学行业提供更多优质、经济、使用方便，且拥有自主知识产权的酶产品。公司总部位于中国（江苏）自贸区连云港片区，参照 GMP 标准建设与管理；子公司江苏百时美生物科技有限公司位于连云港国家级高新区，主要承担原酶研究和科研试剂生产。

秉承愚公移山的精神，愚公生物在国内首次实现了限制性内切酶的规模化生产。现有限制酶、PCR、等温扩增、逆转录、荧光定量 PCR、修饰克隆、体外转录、速溶颗粒等 10 个系列上百种产品，进入多家行业龙头企业的供应链。



RESTRICTION ENDONUCLEASE

Yugong Biotech Co., Ltd.



1
发酵



2
发酵控制和菌体检测



3
菌体收集和破碎处理



4
蛋白纯化



目录

CONTENTS

	质量体系	01
	技术支持服务	03
01	相关术语定义	04
	限制性内切酶	05
	限制酶分类	05
	切刻内切酶	07
	限制酶命名规则	07
	同裂酶	08
	星号活性	08
	导致星号活性的因素	09
	抑制星号活性的方法	09
	LightNing® (雷霆) 系列快速限制酶	10
	限制酶活性定义	11
	不同厂家限制酶活性换算	11
	双酶切反应	12
	DNA 甲基化对限制酶的影响	13
	保护碱基	15
	重组人血清白蛋白 (rHSA)	18
02	限制酶常见问题与解答	19
	如何查找限制酶?	20
	酶切反应时需要注意哪些问题?	21
	限制酶的反应体积是否可以缩小?	21
	我需要严格遵守 5~15 min 的酶切时间吗?	21
	酶切反应时需要设置对照吗?	21

酶切反应需要设置哪些对照?	22
进行酶切 - 连接除了连接酶以外还需要什么酶?	22
切割超螺旋 DNA 应该注意什么问题?	22
哪些限制酶是甲基化敏感的?	22
限制酶消化的最佳 DNA 浓度是多少?	22
限制酶可以稀释使用吗?	23
限制酶简并性识别位点一定是回文的吗?	23
雷霆系列限制酶的稳定性如何? 运输过程中冻融对酶的活力是否产生影响?	23
酶的有效期是多少?	23
为了保证酶量小于体系的 1/10, 多酶切时往往可加入酶量较少, 从而导致酶切不完全, 如何解决?	23
酶切反应完成后是否一定要终止反应?	24
限制酶反应时需要考虑星号活性吗?	24
底物 DNA 酶切后无变化, 哪些因素可能抑制了酶切?	24
限制酶能切割单链 DNA 吗?	25
什么是位点优势效应?	25
什么是归位内切酶?	25
03 Troubleshooting 表格	26
04 附录	34
限制酶特性表	35
图标说明	40
简并碱基表	40

质量体系

江苏愚公生物科技有限公司以 GMP 级别进行质量管理



<p>生产工艺</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 生产过程和成品均无动物源成分 • 生产过程中不使用抗生素 • 来源及质量明确的细胞库 • 精选与专用的层析基质 • 严格的确认、验证及偏差、变更管理系统
<p>产品属性</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 严格的原辅料供应商管理及质量追溯系统 • 基于不同规格及包装形式产品的稳定性研究 • 严格的生产过程控制，确保产品质量符合要求
<p>质量保证和监管</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 通过 ISO13485 质量管理体系认证 • 使用经过验证与确认的方法及设备，并形成记录 • 完善的变更、偏差及 CAPA 管理流程

百时美生物科技有限公司已通过 ISO9001：2015 质量管理体系认证



生产工艺	<ul style="list-style-type: none"> • 生产过程中或成品中可能含动物源成分 • 生产过程可能使用抗生素 • 灵活的生产规模，生产工艺可能会随生产规模的变化而改变 • 更多的定制化选择
产品属性	<ul style="list-style-type: none"> • 按需提供原材料和成品的可追溯性信息 • 所有产品均可提供多种规格，包括定制规格 • 所有产品均经过严格的检测，并提供评判标准
质量保证和监管	<ul style="list-style-type: none"> • 通过 ISO9001 质量管理体系认证 • 所有产品均有完整的生产记录 • 完善的变更管理和批次处理流程

技术支持服务

在实验过程中遇到的各种问题都可以与愚公生物 / 百时美的技术支持联系寻求帮助。我们的技术人员十分乐意与您交流分享技术经验，并第一时间为您提供有针对性的、切实可行的解决方案。此外您还可以通过公司网站了解一些常规实验问题的分析和解答方案。欢迎随时致电，我们期待您的咨询和建议。

技术支持：+86-19901540771

电话：0518-8558-6628

邮箱：support@best-enzymes.com

网址：www.best-enzymes.com

官方微信公众号：愚公生物



愚公生物微信公众号

相关术语定义

01



▶ 限制性内切酶

限制性内切酶 (Restriction endonuclease or restriction enzyme) 是一大类可以识别特定核苷酸序列并水解特定位点磷酸二酯键，并产生游离 5' 磷酸和 3' 羟基末端的酶类统称，简称为限制酶或内切酶。限制酶来源于细菌的“限制 - 修饰”系统，最早发现于 20 世纪 60 年代末。1978 年，因发现并应用限制酶，Werner Arber、Daniel Nathans 和 Hamilton Smith 共同获得了诺贝尔生理学或医学奖。

▶ 限制酶分类

根据 R-M 系统的组成方式、DNA 识别序列与切割位点特征、辅助因子需求等，限制酶可分为如下四个大类：

类别		反应必需因子	识别序列与切割位点	蛋白特性	酶例
Type I		S-腺苷甲硫氨酸 (SAM)、ATP、Mg ²⁺	识别特定序列，切割远离识别序列随机距离的位点	同时具有限制酶和甲基化酶活性	EcoBI, EcoKI
Type II ^{1,2}	Type IIA	Mg ²⁺	识别特定的不对称序列，在识别序列内部或一侧之外固定距离位置切割		BspQI
	Type IIB		Type IIS 的亚型，识别特定序列，在识别序列两侧之外固定距离位置切割	同时具有限制酶和甲基化酶活性	BcgI
	Type IIC		Type IIS 的亚型，识别特定序列，在识别序列之外固定距离位置切割，切割位点会有 1~2 bp 偏差	同时具有限制酶和甲基化酶活性	Eco57I
	Type IIE		Type IIP 的亚型，在催化结构域之外还具有变构结构域。当结合到额外的识别位点时能强化催化效果		EcoRII

类别		反应必需因子	识别序列与切割位点	蛋白特性	酶例
Type II ^{1,2}	Type IIF	Mg ²⁺	识别两段特定的识别序列，并同时切割这两段序列的四条链	同源四聚体	NgoMIV
	Type IIG		Type IIS 的亚型，识别特定序列（多为非回文序列），切割特定位点。需要 SAM 作为甲基供体	同时具有限制酶和 γ 甲基化酶活性	AcuI
	Type IIM		识别并切割特定的甲基化位点		DpnI
	Type IIP		识别特定的回文序列，在识别序列内部或边界切割产生对称末端		HindIII, EcoRV, DpnII
	Type IIS		识别特定序列，在识别序列一侧之外固定距离位置切割		BsaI, BsmBI
	Type IIT		识别特定的不对称序列，在识别序列内部或一侧之外固定距离位置切割	两个不同的催化位点	Bpu10I
Type III	ATP、Mg ²⁺	识别两段分离的反向序列，切割识别序列外围的特定位点，但往往切割不完全	同时具有限制酶和甲基化酶活性	EcoP1I	
Type IV	GTP、Mg ²⁺	识别特定的甲基化长片段 DNA		McrBC, Mrr	
1. 常用的基因工程限制酶都属于 Type II 型					
2. 同一种限制酶可能属于不同的亚型。					

▶ 切刻内切酶 (Nicking Endonuclease)

一般情况下，限制酶都是同时切割 DNA 的两条链。但一些特殊的限制酶识别特定的双链序列，只切割双链 DNA 中的一条链，形成切刻 (nicking) 状态的 DNA 产物。切割产生的单链 5' 磷酸和 3' 羟基末端，可作为很多后续反应的底物，如 DNA 合成置换、链置换扩增、外切降解等。

切刻限制酶的使用方法和普通限制酶一样。由于切刻产物没有完全断裂，因此检测切刻酶活性时，大多检测将超螺旋质粒底物转化为开环状态的能力。

▶ 限制酶命名规则

限制性内切酶的名称通常由其来源物种的分类决定，属名首字母 + 种名前两位字母 + 血清型 / 菌株 + 同菌株的多种限制酶流水号罗马数字。

例如：HindIII

“H”代表 *Haemophilus*

“in”代表 *influenzae*

“d”代表血清型 d

“III”用于区分来自于 *Haemophilus influenzae* 血清型 d 的其它限制性内切酶 (例如：HindII 和 HindIII)。

对于切刻内切酶，需要在正常命名的名称之前，再加上前缀 Nt 或者 Nb。其中 N 代表 Nicking, t 表示切割“上面 (top)”那条链, b 表示切割“下面 (bottom)”那条链 (即互补链)。例如 Nt.BspQI, 是来源于 *Bacillus sphaericus* 的切刻内切酶, 酶切位点是 5'-GCTCTTCN↓-3'; 而 Nb.BbvCI 来源于 *Bacillus brevis* strain C, 酶切位点是 3'-GGAGT↑CG-5'。

▶ 同裂酶

- **同裂酶 (isoschizomer)**：识别相同核苷酸序列的限制酶互为同裂酶，例如：BsmBI 与 Esp3I 均识别 CGTCTCNNNNN。对同裂酶的定义有两种观点：一种观点认为识别相同序列且在相同位置切割的酶才能称为同裂酶；另一种认为只要识别相同序列即为同裂酶，该观点认为下文提及的异裂酶也是同裂酶的一部分。同裂酶之间反应温度、反应缓冲液、甲基化敏感性、星号活性等可能不同，不能简单替换。
- **异裂酶 (Neoschizomer)**：识别相同序列但切割位点不同的酶互为异裂酶，例如：SmaI (CCC/GGG) 与 XmaI (C/CCGGG) 均识别 CCCGGG，但切割位点不同，产生不同的末端。
- **同尾酶 (isocaudamer)**：识别不同序列但能切割产生相同末端的限制酶。例如：BamHI (G/GATCC) 和 BglII (A/GATCT)，Sall (G/TCGAC) 和 XhoI (C/TCGAG)。

▶ 星号活性

在非理想条件下，限制酶切割与理论切割位点相似但不完全相同的序列，这一现象称为星号活性 (Star Activity)。有研究者认为，星号活性可能是限制酶的一种内在性质，如果使酶暴露在特定极端反应条件下，所有限制酶都会出现星号活性。

▶ 导致星号活性的因素

1. 较高的甘油浓度 (>5% v/v) ;
2. 酶与底物 DNA 比例过高;
3. 反应时间过长;
4. 低盐浓度 (<25 mM) ;
5. 高 pH 值 (pH>8.0) ;
6. 存在有机溶剂 (如 DMSO、乙醇、乙烯乙二醇、二甲基乙酰胺、二甲基甲酰胺等) ;
7. 用其它二价离子替代镁离子 (如 Mn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Co^{2+} 、 Zn^{2+} 等) ;

注：上述反应条件的改变对于每种酶的影响不同。

▶ 抑制星号活性的方法

- 尽量降低反应中的甘油浓度。限制酶一般贮存在 50% 甘油中，因此总酶量不应超过反应总体积的 10%；且尽量不要使用过小体积，以免反应过程中水分蒸发提高甘油浓度。
- 选择能完全切割所需的最短时间，延长反应时间可能会引起星号活性。
- 尽可能使用推荐缓冲液。不同离子浓度和 pH 值的缓冲液可能会引起星号活性。
- 确保反应体系中不含其他有机溶剂，如制备 DNA 过程中可能会混有的乙醇。
- 使用镁离子作为二价阳离子，其它二价阳离子不适合限制酶的活性位点，会对其正确识别造成干扰。

▶ LightNing[®]（雷霆）系列快速限制酶

LightNing[®] 系列限制酶具有如下特性：

- **快速酶切：**可在 5~15 min 内完成酶切反应。
- **高保真：**星号活性是限制酶的内在属性。愚公通过蛋白质改造和配方优化，极大降低了 LightNing[®] 系列限制酶的星号活性，保证在 3 h 的反应时间内不产生星号活性。
- **通用缓冲液：**LightNing[®] 系列限制酶统一使用通用的 CutOne[®] 反应缓冲液，所有 LightNing[®] 系列限制酶在该缓冲液中均具有 100% 活性，使得双酶切或多酶切反应更加便捷。同时，我们也提供含有示踪染料的 CutOne[®] Color 缓冲液，酶切产物可直接用于琼脂糖凝胶电泳。
- **兼容性好：**LightNing[®] 系列限制酶与其他国外品牌具有良好的兼容性。所有 LightNing[®] 系列限制酶在 NEB rCutSmart[™] 缓冲液中都具有 100% 活性；绝大多数在 ThermoFisher FastDigest 缓冲液和 Takara QuickCut[™] 中也具有 75% 以上活性，具体详见[本手册附表](#)。同时本公司 CutOne[®] 反应缓冲液与下游反应所需 T4 DNA Ligase (Fast)、Alkaline Phosphatase (Fast) 等修饰酶也完全兼容，可以减少产物纯化步骤，更加省时省力。
- **高冗余度：**为提升客户使用体验，LightNing[®] 系列限制酶额外增加了 2~4 倍酶量冗余。在同条件测试下，我们的活性达到市面上同类产品的高标准水平。即使您酶切反应的底物有一定程度的过量，或者含有超螺旋质粒等难以酶切的底物，使用 LightNing[®] 系列限制酶也能轻松应对。

▶ 限制酶活性定义

愚公 LightNing® 系列限制酶采用 rxn (reaction, 反应数) 作为活性单位。每个 rxn 的 LightNing® 限制酶可在最适反应温度 (大多数为 37°C) 下, 20 µl 通用的 CutOne® 反应体系中, 15 min 内完全消化 1 µg 底物 DNA。

愚公 GMP Grade 系列以及非 LightNing® 限制酶采用 U 作为活性单位。1 U 定义为在最适反应温度 (大多数为 37°C) 下, 50 µl 反应体系中, 1 h 内完全酶切 1 µg 底物 DNA 所需的酶量。

不同公司对于限制酶活性定义

	愚公 LightNing®	NEB	ThermoFisher FastDigest	Takara QuickCut™
活性单位	rxn	U	rxn	rxn
底物量	1 µg	1 µg	1 µg	1 µg
反应时间	15 min	1 h	5 min	5 min
反应体系	20 µl	50 µl	20 µl	50 µl

▶ 不同厂家限制酶活性换算

不同厂家对于限制酶的活性定义条件不尽相同, 5 min、15 min 和 1 h 完全酶切所需酶量不是简单的线性关系, 因此不同厂家的活力单位之间无法直接换算。

尽管各个厂商活性定义不一致, 但是在具体实验中, 我们发现各公司建议的用量其实趋于一致, 均为每个推荐反应体系中加入 1 µl 酶液。因此以酶液的体积进行换算即可。

▶ 双酶切反应

- 愚公 LightNing® 系列限制酶的双酶切可以在愚公 CutOne® 缓冲液中统一进行。需要进行跨品牌使用限制酶进行双酶切反应时，请查阅附录中限制酶特性表的缓冲液兼容性，愚公每个限制酶在研发过程中就测试了在主流品牌缓冲体系中的活性百分比。其中愚公雷霆系列限制酶在 NEB rCutSmart™ Buffer 中均为 100% 活性，因此可以与 NEB 的限制酶同时使用；在 Thermo 的 FastDigest Buffer 以及 Takara 的 QuickCut™ Buffer 中绝大部分酶也表现出 100% 活性，可直接同管使用；少部分表现出 75% 活性的酶可适当提升酶量后使用；当活性低于 50% 时建议分步反应。
- 按推荐条件建立反应体系。愚公推荐酶切反应体系为 20 μl，NEB 推荐酶切反应体系为 50 μl，两种体积均可较好完成双酶切。但如果使用来自两家公司的产品进行双酶切，选择 50 μl 更为理想。无论选择哪种体系，都应保证加入酶液的体积之和低于反应总体积的 1/10（即甘油终浓度 <5%），以避免星号活性。
- 如果两种酶最适反应温度不同，应先完成低温酶切，再进行更高温度的酶切。有条件时建议低温酶切后先热失活，再加入高温酶进行反应。高温反应时请确保在孵育过程中反应体积不会因蒸发而减少（如使用石蜡进行液封等）。
- 如果 2 个酶切位点非常接近，必须注意酶切顺序。对于需要较多保护碱基的酶应该先切，否则可能造成酶切失败。

▶ DNA 甲基化对限制酶的影响

什么是甲基化?

细胞中普遍存在各类甲基转移酶，能够将甲基供体上的甲基转移到腺嘌呤或胞嘧啶上，使 DNA 被甲基化修饰。而在体外通过 PCR 扩增获得的 DNA 片段则一般无甲基化修饰。甲基化修饰通常会导致对甲基化敏感的限制酶切割受影响或完全阻断。

“限制 - 修饰”系统

“限制 - 修饰”系统 (Restriction modification system 或 R-M 系统) 是一种存在于细菌等原核生物中，可保护个体免于外来 DNA (如噬菌体) 侵入的系统。


一般来说，R-M 系统由两种不同的酶组成：第一种是在特定序列上切割 DNA 的限制酶，第二种是在同一位点对 DNA 碱基进行甲基化修饰的甲基转移酶，防止同源限制酶的切割。在 R-M 系统的作用下，细菌自身 DNA 被甲基化修饰保护，不被自身表达的限制酶切割；而入侵的外来 DNA 因未经甲基化而被水解，从而起到防护自身细胞作用。

原核生物甲基化

分子生物学中普遍使用的部分大肠杆菌菌株 (如 JM109、HB101 等) 还含有 4 种位点特异性的甲基转移酶，分别是：Dam 甲基转移酶 (形成 G^mATC)、Dcm 甲基转移酶 (形成 C^mCWGG)、EcoKI (形成 A^mACN^mNNNNNGTGC 和 GC^mACN^mNNNNNGTT) 和 EcoBI (形成 TG^mAN^mNNNNNNNTGCT 和 AGC^mAN^mNNNNNNNTCA)，从这些菌株中提取的质粒 DNA 也会带有相应的甲基化位点。如果所使用的限制酶识别位点与这些甲基化位点有重叠，则可能导致酶切受到阻遏。例如，从基因型为 *dam*⁺ 的大肠杆菌中提取的质粒不能被识别序列为 GATC 的 DpnII 所切割。因此，对于受 *dam* 或 *dcm* 甲基化影响的限制酶，应当使用从 *dam*⁻ 或 *dcm*⁻ 基因型的大肠杆菌菌株中提取的 DNA，或使用 PCR 扩增获得的 DNA。

CpG 甲基化

哺乳动物细胞内普遍存在 CpG 甲基转移酶，会将一部分 CG 序列中的胞嘧啶进行甲基化修饰。如果限制酶酶切位点中包含 CG 序列，则酶切可能受阻。例如，HpaII 识别位点为 CCGG，无法切割被 CpG 甲基化修饰的 DNA。因此，在消化真核生物基因组 DNA 时，同样需要注意 CpG 甲基化的影响。注意，细菌一般不存在 CpG 甲基转移酶，因此被转化到细菌中扩繁得到的 DNA，一般不存在 CpG 甲基化形式。

 本手册附表和公司网站上都提供了愚公生产的所有限制酶的甲基化敏感性。在设计酶切实验之前，请确认所用 DNA 的甲基化修饰情况和所用限制酶的甲基化敏感性。

特异性切割甲基化位点的限制酶

有少数限制酶识别并仅切割被甲基化修饰的 DNA，如 DpnI 和 SgeI。

DpnI 特异性识别并切割双链 DNA 中腺嘌呤被甲基化修饰的 G^mATC 序列（即 Dam 修饰），对未被甲基化的 GATC 序列无作用。

SgeI 特异性识别单链或双链 DNA 上胞嘧啶被甲基化的 ^mCNNG 序列（Dcm 修饰的一种）并在下游切割，不识别未被甲基化的 CNNG 序列。

DpnI 和 SgeI 可以被用来进行 DNA 定点突变。从 *dam*⁺ 或 *dcm*⁺ 基因型菌株中提取的质粒带有甲基化修饰。如果设计带有突变位点的引物，以甲基化质粒为模板进行 PCR 扩增，获得的产物不带有甲基化修饰。这样使用 DpnI 或 SgeI 进行处理，就会只消化未突变的质粒模板，而保留带有突变位点的扩增产物。

在此基础上，愚公创新性地将 DpnI 和 SgeI 按一定比例混合并成功推出了对甲基化质粒消化能力更强的产品：Template Eliminator (REF: EG21203)，该产品对甲基化质粒的消化能力远超过 DpnI 和 SgeI 单酶。目前该产品已成功获得发明专利授权 (ZL202210526791.6)。

用于表观遗传研究的限制酶

有些同裂酶的甲基化敏感程度不同，对于甲基化和非甲基化位点能够产生截然不同的产物，可以有效获得甲基化信息。

例如：

DpnI 和 DpnII 可以用于分析 Dam 甲基化

HpaII 和 MspI 可以用于分析 CpG 甲基化

▶ 保护碱基

限制酶往往会要求底物 DNA 在识别序列的上下游至少还保留一定数目的核苷酸，才能实现有效切割，特别是当识别序列靠近 DNA 序列的末端时。这些额外的碱基被称为保护碱基，一般情况下对序列没有要求。

保护碱基表

名称	货号	保护碱基 (bp)
LightNing® Accl	EG15502S	13
LightNing® AgeI	EG23501S	1
LightNing® ApaLI	EG15601S	Not Determined
LightNing® AscI	EG15508S	0
LightNing® AvrII	EG15509S	3
LightNing® BamHI	EG15510S	3
LightNing® BclI	EG15513S	3
LightNing® BglII	EG15591S	2
LightNing® BsaI	EG15518S	1
LightNing® BsrGI	EG23505S	1
LightNing® BstBI	EG15607S	Not Determined
LightNing® BstEII	EG15528S	Not Determined
LightNing® ClaI	EG15532S	4

名称	货号	保护碱基 (bp)
LightNing [®] DdeI	EG24501S	1
LightNing [®] DpnI	EG15585S	2
LightNing [®] DpnII	EG15533S	Not Determined
LightNing [®] DraI	EG23502S	Not Determined
LightNing [®] EagI	EG15535S	2
LightNing [®] EarI	EG23511S	Not Determined
LightNing [®] EcoRI	EG15536S	5
LightNing [®] EcoRV	EG15537S	5
LightNing [®] Esp3I (BsmBI)	EG21503S	1
LightNing [®] FspI	EG15586S	Not Determined
LightNing [®] HaeIII	EG23509S	Not Determined
LightNing [®] HindIII	EG15539S	3
LightNing [®] HinfI	EG15593S	Not Determined
LightNing [®] HpaI	EG15541S	1
LightNing [®] HpaII	EG23507S	Not Determined
LightNing [®] KasI	EG15543S	1
LightNing [®] KpnI	EG15544S	2
LightNing [®] MluI	EG15547S	3
LightNing [®] MnlI	EG15548S	Not Determined
LightNing [®] MspI	EG23508S	Not Determined
LightNing [®] MunI (MfeI)	EG23510S	3
LightNing [®] NcoI	EG15550S	3
LightNing [®] NdeI	EG15552S	3
LightNing [®] NheI	EG15552S	3
LightNing [®] NotI	EG15553S	4
LightNing [®] NruI	EG15602S	Not Determined

名称	货号	保护碱基 (bp)
LightNing [®] NsiI	EG15606S	3
LightNing [®] PaeI	EG15603S	1
LightNing [®] PmeI	EG23506S	1
LightNing [®] PspGI (EcoRII)	EG15560S	Not Determined
LightNing [®] PstI	EG15561S	2
LightNing [®] PvuI	EG23513S	1
LightNing [®] PvuII	EG15604S	4
LightNing [®] SacI	EG15565S	3
LightNing [®] SacII	EG15605S	1
LightNing [®] Sall	EG15566S	3
LightNing [®] SbfI	EG15568S	2
LightNing [®] Scal	EG24502S	2
LightNing [®] SfiI	EG15570S	1
LightNing [®] SmaI	EG15572S	1
LightNing [®] SpeI	EG15574S	2
LightNing [®] SphI	EG15575S	1
LightNing [®] SspI	EG15576S	2
LightNing [®] StuI	EG15577S	1
LightNing [®] TaqI	EG15580S	Not Determined
LightNing [®] XbaI	EG15581S	2
LightNing [®] XcmI	EG15582S	Not Determined
LightNing [®] XhoI	EG15583S	4
BsmBI	EG22507S	Not Determined
BspQI	EG23503S	Not Determined
SgeI	EG21501S	Not Determined

注：产品持续更新中，最新信息请参考公司官网技术资料。本表中未标明保护碱基数量的酶，一般在上下游各需要至少 6 个保护碱基对。

▶ 重组人血清白蛋白 (rHSA)

工具酶制剂的缓冲液中通常会添加血清白蛋白，血清白蛋白一方面可以提高工具酶稳定性，另一方面降低操作过程中酶因吸附于管壁或吸头而造成的损失。

此前常用的血清白蛋白多为从动物组织中提取的牛血清白蛋白 (BSA)，批次间稳定性难以控制，且容易残留其他酶原污染。我们的限制酶以及其他工具酶制剂中都已替换为重组表达的人血清白蛋白 (rHSA)，纯度更高，批次间控制更好。

此外，在生物药物和疫苗制造等领域，BSA 等动物来源材料可能存在未知的致病因子而导致风险，因此愚公 GMP Grade 产品更严格地遵循了无动物源性 (ADCF, animal derived component free, 指酶的发酵、原辅料、纯化手段中，都不涉及包含动物来源的成分) 要求。

限制酶常见问题与解答 02



愚公生物生产车间内部实拍

▶ 常规回答

▣ 如何查找限制酶?

我司提供了限制酶查找工具，可按限制酶名称、酶切位点等关键词快速查找相关产品的同裂酶、酶切位点、最适反应温度、失活条件、甲基化影响等信息。

访问方式为：公司官网 (<http://best-enzymes.com>)，首页“产品中心”下方可见“热门产品：限制酶工具”，点击进入即可。或首页上方 - 技术资料 - 限制酶工具



酶切反应时需要注意哪些问题？

- 酶从冰箱取出后请一直置于冰上。
- 注意反应缓冲液的终浓度为 1×。
- 酶最后加入到反应体系中。
- 加入酶之后将反应混合液混匀，可以用移液枪上下吹打或轻弹管壁，然后在离心机中瞬时离心。切忌振荡混匀。
- 避免 DNA 样品中酚、氯仿、乙醇、EDTA、去垢剂或过多盐离子的污染。
- 注意底物 DNA 甲基化对所用限制酶的影响。
- 加入酶液不应超过总体积的 10%，以避免甘油过量引起的星号活性。
- 大多数限制酶建议保存在 -20°C，少数建议保存在 -80°C，具体参见说明书。
- 10× CutOne[®] 缓冲液应保存在 -20°C。
- 应在保质期内使用。

限制酶的反应体积是否可以缩小？

不建议缩小限制酶的反应体积，可能会影响酶切效果。

我需要严格遵守 5~15 min 的酶切时间吗？

雷霆系列限制酶经过改造可以将酶切时间缩短至 5~15 min。同样也消除了星号活性。经过我们严格测试，在 3 h 内都不会出现星号活性，但不建议更长时间酶切。

酶切反应时需要设置对照吗？

最好设置对照，便于分析和鉴定酶切反应结果。特别是当酶切不成功时，便于查明原因。

酶切反应需要设置哪些对照？

应设置阴性对照和阳性对照，具体为：

1. 阳性对照，使用 λ DNA 或其他已知质粒进行酶切，排除酶的质量问题；
2. 阴性对照，反应体系不加酶，便于酶切以后的结果比对。

进行酶切 - 连接除了连接酶以外还需要什么酶？

需要对载体进行去磷酸化以避免载体自连时，可以使用碱性磷酸酶（REF：EG15208S）。该酶在 CutOne[®] 反应缓冲液中具有 100% 活性。

切割超螺旋 DNA 应该注意什么问题？

切割超螺旋所需酶量一般比切割线性 DNA 要多。通常在标准反应体系中切割超螺旋 DNA 所需的酶量是切割 λ DNA 的 3~5 倍。

哪些限制酶是甲基化敏感的？

同一种酶可以同时受几种不同的甲基化类型影响，具体情况详见说明书或本手册附表。

非公司产品可参考 NEB REBASE 数据库。

限制酶消化的最佳 DNA 浓度是多少？

限制性反应液中 DNA 浓度的最佳范围是 0.02~0.1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 。为了避免 DNA 溶液中潜在杂质的抑制，建议在 DNA 量较大时增加反应的总体积。

限制酶可以稀释使用吗？

建议不要稀释。LightNing[®] 限制酶的浓度都根据最佳反应条件预先设定。稀释后酶浓度与活性以及反应时间之间不呈简单线性关系，并不是稀释 10 倍后延长 10 倍的酶切时间就可以达到同样的酶切效果。

限制酶简并性识别位点一定是回文的吗？

有些限制酶具有简并性识别位点，也就是说识别位点中有一个或以上的碱基对是非特异的（例如：AccI 识别 GTMKAC，M=A/C，K=G/T）。对于这样的具有简并性识别位点的限制酶，只要是符合要求的序列皆能被识别并且被正确地切割（包括 GTATAC，GTAGAC，GTCGAC 和 GTCTAC，其中两个并不是回文的，仍然能被 AccI 识别并且切割）。

雷霆系列限制酶的稳定性如何？运输过程中冻融对酶的活力是否产生影响？

常规运输一般采用蓝冰，在夏季天气较热的情况下可能会加入干冰。只要您收到货时泡沫盒内仍处于低温状态，限制酶的活性就不会受到影响。

酶的有效期是多少？

保质期 2 年。

为了保证酶量小于体系的 1/10，多酶切时往往可加入酶量较少，从而导致酶切不完全，如何解决？

说明书中给出的是最佳反应体系，可以根据具体需求进行适当调整。酶切不完全的问题可以从这几个方面进行解决：降低底物浓度，提高酶量同时扩大反应体系，或者适当延长反应时间（不超过 3 h）。

▣ 酶切反应完成后是否一定要终止反应？

限制酶对于下游反应（连接与转化等）有影响，部分限制酶能与双链 DNA 结合，对于凝胶电泳会产生影响；而且不失活酶切产物不能保存。故反应完成后应对其进行失活处理。常规失活方式为高温热失活，对于无法热失活的限制酶，可以通过酚 / 氯仿抽提或 DNA 纯化试剂盒使反应终止。

▣ 限制酶反应时需要考虑星号活性吗？

大多数星号活性是可以控制的，因此，做酶切反应时一般不需要考虑这方面的因素。只要在正常条件下，使用随酶提供的反应缓冲液，我司限制酶就不会出现星号活性。但是，在双酶切时一种酶的反应条件可能会引起另一种酶出现星号活性。

避免星号活性的有效方法：适当扩大反应体积（较小的反应体积容易造成甘油体积达到或超过总反应体积的 5%），避免超过 3 h 孵育。

▣ 底物 DNA 酶切后无变化，哪些因素可能抑制了酶切？

- 底物中无所选限制酶的酶切位点，可能是由于序列突变或其他因素导致。
- 很多限制酶对于 DNA 的甲基化非常敏感，应确保 DNA 的甲基化类型不会阻止限制酶反应。
- 某些品牌的质粒提取试剂盒提取的底物带有杂质，会抑制酶切反应。推荐使用愚公试剂盒（REF: EG23702）。
- 部分酶需要 2 个及以上的识别位点才能进行切割，如 SfiI。

限制酶能切割单链 DNA 吗？

从限制酶和双链 DNA 相互作用的几何结构来看，在分子水平上，限制酶几乎不可能识别并切开单链 DNA。而某些酶之所以可以切开单链 DNA，很可能是因为这些酶识别了这些单链 DNA 上多个回文结构之间暂时形成的双链 DNA。因此，单链 DNA 的切割受很多因素的影响，这些因素包括：DNA 上识别位点的数目，这些位点之间的距离，瞬时二聚体的稳定性（富含 GC 的底物要比富含 AT 的单链 DNA 底物切割效率高）以及在识别位点之外有多少个保护碱基等等。

什么是位点优势效应？

某些限制酶对同一底物的不同位点切割效率不同，这种现象被称为位点优势效应 (Site Preferences)。例如 *NarI*，它表现出明显的位点偏好性，在 pBR322 上 548 bp 位置的 *NarI* 位点处，酶切十分缓慢。

什么是归位内切酶？

归位内切酶是双链 DNA 核酸酶，能识别较长的非回文序列 (12~40 bp)。归位内切酶与限制性内切酶不同，没有严格的识别序列。因此，单碱基的改变并不影响其识别功能，但会不同程度地降低其切割速率。

Troubleshooting

03



愚公生物生产车间内部实拍

问题	可能的原因	解决方案
酶切不完全	加入酶量较少	说明书中给出的是最佳反应体系，可以根据具体需求进行适当调整。酶切不完全的问题可以从这几个方面进行解决：降低底物浓度，提高酶量同时扩大反应体系，或者适当延长反应时间。
	酶切反应底物 DNA 被污染	<ul style="list-style-type: none"> 底物中含有过量的盐将抑制反应的发生，需进行 DNA 纯化 / 抽提后进行酶切反应； 增大反应体系以稀释污染物，DNA 溶液体积不应超过总反应体积的 25%。
	部分酶切割超螺旋困难	通常在标准反应体系中切割超螺旋 DNA 所需的酶量是切割 λ DNA 的 3~5 倍，或者延长孵育时间。部分酶即使增加酶量或延时孵育也无法切割超螺旋，此时建议更换限制酶。此类酶常见的酶有 NarI、BglI。
	PCR 组份的抑制	PCR 产物酶切前尽量进行纯化，避免 PCR 产物中带入的其它物质影响酶切反应。通常建议 PCR 产物的添加量占总反应体积 25% 以下。
	使用错误的缓冲液	使用随酶提供的缓冲液。
	温育时间过短	增加温育时间，但最长不建议超过 3 h。

问题	可能的原因	解决方案
酶切不完全	位点切割缓慢	某些酶对一些特异性的位点表现出较慢的切割速度，如 KasiI、NarI。可适当增加温育时间，一般 1~2 小时即可。
	需要两个识别位点	某些酶需要两个识别位点的存在才能有效切割，如 BcgI、BpmI、FokI、NaeI、SacII、SfiI。若想使用此类酶切割单识别位点的底物，可尝试加入含识别位点的寡核苷酸。
	未在反应体系配制完成后充分混匀	推荐用枪头轻轻吹打 3 到 5 次或用手指轻弹管壁，之后用离心机瞬离。
	使用涡旋振荡器	不要涡旋混匀，剧烈振荡对酶的活性有极大的影响。
	甲基化阻断	从细菌分离的 DNA 可能被 Dam 或 Dcm 甲基化修饰，从真核生物分离的 DNA 可能被 CpG 甲基化修饰。因此使用限制酶进行酶切前，应查看该酶的甲基化敏感性，确定该酶能否用于目标底物的酶切。如果酶被 Dam 或 Dcm 甲基化抑制活性，将质粒在 <i>dam⁻dcm⁻</i> 菌株中培养，或者更换非甲基化敏感型限制酶。此外 PCR 产物不存在甲基化，通常也可以解决该问题。

问题	可能的原因	解决方案
酶切不完全	反应温度错误	部分酶的最佳反应温度不是 37°C，此类酶在 37°C 一般活性较差，常见的有 BsmBI，其最佳反应温度为 55°C。在 37°C 仅有 10% 的活性。
	没有识别位点	一些经过重组等处理的 DNA，碱基易发生缺失、变化等，建议确定 DNA 序列无变化。
	缺乏保护碱基	通常限制酶发挥作用需要有一定的保护碱基，请于 PCR 引物设计阶段注意添加。
	找不到酶切反应不能进行的原因	推荐对照 DNA 底物（有多个酶切位点的 DNA 底物例如 λDNA），进行对比反应。如果对照 DNA 底物能够被切开而您的底物仍旧不能被切开，将两种 DNA 底物进行混合，进一步确保 DNA 底物中不存在能够抑制限制酶反应的物质。
酶切后 DNA 琼脂糖凝胶电泳呈弥散状	限制酶与底物 DNA 结合	<ul style="list-style-type: none"> 降低使用的酶量； 在上样缓冲液中加入 SDS (0.1~0.5%) 以分离与 DNA 结合的酶，或使用 6× SDS DNA Loading Buffer； 用蛋白酶 K 处理产物

问题	可能的原因	解决方案
酶切后 DNA 琼 脂糖凝胶 电泳呈弥 散状	核酸酶污染	<ul style="list-style-type: none"> 使用新配制的无杂质的电泳缓冲液和新配制的琼脂糖凝胶； 纯化 DNA。
胶中条带 与预期不 符	出现星号活性	<ul style="list-style-type: none"> 使用随酶提供的推荐缓冲液； 酶切时间缩短至 5~15 min； 适当扩大反应体积（较小的反应体积容易造成甘油体积达到或超过总反应体积的 5%）； 不进行超长时间孵育（过夜消化极易产生星活性）； 减少反应中酶的含量； 降低甘油含量（通常不高于 5%）。
	如果胶中出现比预期更大的条带，这可能是由于酶与底物结合	<ul style="list-style-type: none"> 降低使用的酶量； 在上样缓冲液中加入 SDS（0.1-0.5%）以分离与 DNA 结合的酶。
	限制酶切割不完全	详见上文。
	被未知限制酶污染	不洁净的管子等途径掺入酶切反应中，此时应更换未开封的新酶。

问题	可能的原因	解决方案
很少或没有克隆	转化效率差	验证您所用的大肠杆菌感受态细胞的转化效率。
	连接反应不成功	确认载体或插入片段含有一个 5' 磷酸基团。
		可以尝试连接单酶切后的载体。
		确保用于制备载体和插入片段的限制酶已经通过酚抽提和缓冲液置换被去除，或者至少已经被灭活。
	载体和 / 或插入片段的酶切不完全	将酶切产物进行凝胶电泳来确认酶切状况。如果酶切不完全，则要进行重新酶切或凝胶纯化酶切完全的片段。
		如果通过 PCR 引物引入酶切位点。确保在酶切位点的上游有足够的保护核苷酸以实现有效的酶切（保护碱基的数目取决于所使用的限制酶。一般建议至少为 6 个碱基）。
		确保使用了正确的缓冲液用于酶切。
抗生素使用浓度过高	确保使用了正确量的抗生素。	
使用了错误的的抗生素	确保使用载体上带有的抗性基因对应的抗生素。	

问题	可能的原因	解决方案
很少或没有克隆	DNA 损伤或 DNA 有切口	在凝胶纯化过程中，尽可能减少 DNA 暴露于紫外光的时间。
	载体自连	载体去磷酸化不彻底。通过对去磷酸化的载体连接和转化来验证。使用碱性磷酸酶（REF: EG15208S）对载体进行去磷酸化处理。
假阳性过多	仍存在未被酶切的载体	通过转化酶切后尚未进行连接的载体来验证。对酶切后的载体进行凝胶回收后再用于连接。
	插入片段对细胞有毒性	尝试在较低温度（30°C或室温）培养细菌。克隆出现将需要更长时间。
		尝试使用不同菌种。
	使用的抗生素浓度过低	使用正确浓度的抗生素。
	抗生素发生降解	使用无抗性的感受态细胞进行平板涂布，以确认抗生素筛选是正常工作的。



附录

04



愚公生物内部实拍

愚公生物 & 百时美——限制酶特性表













名称	货号	酶切序列	随酶提供 Buffer	在不同 Buffer 中的活性				反应温度 (°C)	热失活温度 (°C)	甲基化敏感性
				百时美 CutOne® Buffer	Thermo FastDigest Buffer	NEB rCutSmart™ Buffer	Takara QuickCut™ Buffer			
LightNing® Accl	EG15502S	GT/MKAC	CutOne®	100	< 10	100	< 10	37	80	GG
LightNing® AgeI	EG23501S	A/CCGGT	CutOne®	100	50	100	50	37	80	GG
LightNing® ApaLI	EG15601S	G/TGCAC	CutOne®	100	75	100	100	37	80	GG EK
LightNing® AscI	EG15508S	GG/CGCGCC	CutOne®	100	100	100	100	37	80	GG
LightNing® AvrII	EG15509S	C/CTAGG	CutOne®	100	100	100	100	37	No	
LightNing® BamHI	EG15510S	G/GATCC	CutOne®	100	100	100	100	37	No	
LightNing® BclI	EG15513S	T/GATCA	CutOne®	100	100	100	100	37	80	Dam EB
LightNing® BglII	EG15591S	A/GATCT	CutOne®	100	100	100	50	37	No	EB
LightNing® BsaI	EG15518S	GGTCTC(1/5)	CutOne®	100	100	100	100	37	80	GG Dcm
LightNing® BsrGI	EG23505S	T/GTACA	CutOne®	100	100	100	100	37	80	
LightNing® BstBI	EG15607S	TT/CGAA	CutOne®	100	100	100	100	37	80	GG EK
LightNing® BstEII	EG15528S	G/GTNACC	CutOne®	100	75	100	75	37	80	EB EK
LightNing® ClaI	EG15532S	AT/CGAT	CutOne®	100	100	100	100	37	80	Dam GG EB
LightNing® DdeI	EG24501	C/TNAG	CutOne®	100	50	100	50	37	80	EB
LightNing® DpnI	EG15585S	Gm ^s A/TC	CutOne®	100	100	100	100	37	80	GG EB
LightNing® DpnII	EG15533S	/GATC	CutOne®	100	75	100	75	37	80	Dam EB
LightNing® DraI	EG23502S	TTT/AAA	CutOne®	100	100	100	100	37	80	EK
LightNing® EagI	EG15535S	C/GGCCG	CutOne®	100	100	100	100	37	80	GG
LightNing® EarI	EG23511S	CTCTTC(1/4)	CutOne®	100	12.5	100	25	37	80	GG
LightNing® EcoRI	EG15536S	G/AATTC	CutOne®	100	100	100	100	37	80	GG EB
LightNing® EcoRV	EG15537S	GAT/ATC	CutOne®	100	100	100	100	37	80	GG EB
LightNing® Esp3I (BsmBI)	EG21503S	CGTCTC(1/5)	CutOne®	100	100	100	100	37	80	GG
LightNing® FspI	EG15586S	TGC/GCA	CutOne®	100	100	100	100	37	No	GG
LightNing® HaeIII	EG23509S	GG/CC	CutOne®	100	100	100	100	37	80	
LightNing® HindIII	EG15539S	A/AGCTT	CutOne®	100	75	100	100	37	80	EB
LightNing® HinfI	EG15593S	G/ANTC	CutOne®	100	100	100	50	37	80	GG EB
LightNing® HpaI	EG15541S	GTT/AAC	CutOne®	100	100	100	50	37	80	GG EK
LightNing® HpaII	EG23507S	C/CGG	CutOne®	100	< 25	100	< 25	37	80	GG
LightNing® KasI	EG15543S	G/GCGCC	CutOne®	100	100	100	100	37	80	GG
LightNing® KpnI	EG15544S	GGTAC/C	CutOne®	100	100	100	100	37	No	
LightNing® MluI	EG15547S	A/CGCGT	CutOne®	100	75	100	100	37	80	GG EK EB
LightNing® MnlI	EG15548S	CCTC(7/6)	CutOne®	100	100	100	100	37	80	EB
LightNing® MspI	EG23508S	C/CGG	CutOne®	100	25	100	25	37	No	
LightNing® MunI (MfeI)	EG23510S	C/AATTG	CutOne®	100	12.5	100	12.5	37	No	
LightNing® NcoI	EG15550S	C/CATGG	CutOne®	100	100	100	100	37	80	
LightNing® NdeI	EG15551S	CA/TATG	CutOne®	100	100	100	100	37	80	
LightNing® NheI	EG15552S	G/CTAGC	CutOne®	100	100	100	100	37	80	GG
LightNing® NotI	EG15553S	GC/GGCCGC	CutOne®	100	100	100	100	37	80	GG

愚公生物 & 百时美——限制酶特性表

名称	货号	酶切序列	随酶提供 Buffer	在不同 Buffer 中的活性				反应温度 (°C)	热失活温度 (°C)	甲基化敏感性
				百时美 CutOne® Buffer	Thermo FastDigest Buffer	NEB rCutSmart™ Buffer	Takara QuickCut™ Buffer			
LightNing® NruI	EG15602S	TCG/CGA	CutOne®	100	100	100	100	37	No	☐☐☐☐
LightNing® NsiI	EG15606S	ATGCA/T	CutOne®	100	100	100	100	37	80	☐☐
LightNing® PaeI	EG15603S	TTAAT/TAA	CutOne®	100	100	100	100	37	80	
LightNing® PmeI	EG23506S	GTTT/AAAC	CutOne®	100	50	100	50	37	80	☐☐☐
LightNing® PspGI (EcoRII)	EG15560S	/CCWGG	CutOne®	100	100	100	50	75	No	☐☐☐
LightNing® PstI	EG15561S	CTGCA/G	CutOne®	100	100	100	100	37	No	
LightNing® PvuI	EG23513S	CGAT/CG	CutOne®	100	100	100	100	37	80	☐☐☐
LightNing® PvuII	EG15604S	CAG/CTG	CutOne®	100	100	100	100	37	No	☐☐
LightNing® SacI	EG15565S	GAGCT/C	CutOne®	100	100	100	100	37	80	
LightNing® SacII	EG15605S	CCGC/GG	CutOne®	100	100	100	100	37	80	☐☐☐
LightNing® Sall	EG15566S	G/TCGAC	CutOne®	100	100	100	100	37	80	☐☐☐
LightNing® SbfI	EG15568S	CCTGCA/GG	CutOne®	100	100	100	100	37	80	
LightNing® Scal	EG24502S	AGT/ACT	CutOne®	100	100	100	100	37	80	☐☐
LightNing® SfiI	EG15570S	GGCCN(N)N/NGGCC	CutOne®	100	100	100	100	50	No	☐☐☐☐☐☐
LightNing® SmaI	EG15572S	CCC/GGG	CutOne®	100	100	100	100	25	80	☐☐☐
LightNing® SpeI	EG15574S	A/CTAGT	CutOne®	100	100	100	100	37	80	☐☐☐☐☐
LightNing® SphI	EG15575S	GCATG/C	CutOne®	100	100	100	100	37	80	☐☐
LightNing® SspI	EG15576S	AAT/ATT	CutOne®	100	50	100	100	37	80	
LightNing® StuI	EG15577S	AGG/CCT	CutOne®	100	100	100	100	37	80	☐☐☐
LightNing® TaqI	EG15580S	T/CGA	CutOne®	100	100	100	100	65	No	☐☐☐☐
LightNing® XbaI	EG15581S	T/CTAGA	CutOne®	100	50	100	100	37	80	☐☐☐☐
LightNing® XcmI	EG15582S	GGCCN(N)N/NGGCC	CutOne®	100	50	100	25~50	37	80	
LightNing® XhoI	EG15583S	C/TCGAG	CutOne®	100	100	100	100	37	80	☐☐☐
BsmBI	EG22507S	CGTCTC(1/5)	HN Buffer		专用缓冲液, 不兼容其他			55	80	☐☐☐☐☐☐
BspQI	EG23503S	GCTCTTC(1/4)	HN Buffer		专用缓冲液, 不兼容其他			50	80	
SgeI	EG21501S	m ⁵ CNNG(9/13)	SgeI Buffer		专用缓冲液, 不兼容其他			37	80	
EcoRI, ADCF	EG22504S	G/AATTC	CutOne® Buffer, ADCF		专用缓冲液, 不兼容其他			37	80	☐☐☐
Esp3I(BsmBI), ADCF	EG21504H	CGTCTC(1/5)	Esp3I Buffer, ADCF		专用缓冲液, 不兼容其他			37	80	☐☐☐
BsaI, GMP Grade	GMP501S	GGTCTC(1/5)	Cut Buffer F, GMP Grade		专用缓冲液, 不兼容其他			37	80	☐☐☐☐☐☐
XbaI, GMP Grade	GMP502S	T/CTAGA	CutOne® Buffer, GMP Grade		专用缓冲液, 不兼容其他			37	80	☐☐☐☐
Nt.BspQI	EG23512S	GCTCTTC(1/none)	Cut Buffer C		专用缓冲液, 不兼容其他			50	80	
Nb.BsrDI	EG23514S	GCAATG (none/0)	CutOne® Buffer		专用缓冲液, 不兼容其他			65	80	

注：产品持续更新中，最新信息请参考公司官网技术资料。

图标说明

-  快速内切酶，可在 5~15 min 内完成反应
-  最适反应温度为 25°C
-  最适反应温度为 37°C
-  最适反应温度为 50°C
-  最适反应温度为 55°C
-  最适反应温度为 65°C
-  最适反应温度为 75°C
-  对于被 CpG 甲基化的 DNA，剪切可能受阻
-  对于被 Dcm 甲基化的 DNA，剪切可能受阻
-  对于被 Dam 甲基化的 DNA，剪切可能受阻
-  对于被 EcoKI 甲基化的 DNA，剪切可能受阻
-  对于被 EcoBI 甲基化的 DNA，剪切可能受阻
-  可用于表观遗传学分析
-  失活条件为 80°C 温育 20 min
-  不可热失活
-  3 h 温育未表现星号活性，更长时间酶切可能出现星号活性
-  不含动物源性相关组分
-  生产过程符合 GMP 规范

简并碱基表

R = A or G	Y = C or T	M = A or C	K = G or T
S = C or G	W = A or T	H = A or C or T	B = C or G or T
V = A or C or G	D = A or G or T	N = A or C or G or T	



扫一扫,关注更多!

江苏愚公生物科技有限公司 / 江苏百时美生物科技有限公司

Yugong Biotech Co., Ltd. / BestEnzymes Biotech Co., Ltd.

Tel: 0518-8558 6628 · support@best-enzymes.com · <http://best-enzymes.com>

Add: 中国 (江苏) 自贸区连云港片区跃湖路 28 号国际医药创新产业园 E 栋第 2 层

聚焦精准医学 创造酶好生活
Best Enzymes For Better Life