天净沙系列

CAT#:28-EC3.1.21.4-HpyCH4V
低温运输，-20℃保存

天净沙

# HpyCH4V II 型限制性内切酶，5 U/μL

HpyCH4V Type II Restriction Enzyme，5 U/μL

## 使用手册 V1.05

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

## 产品及特点

HpyCH4V 限制性内切酶产品特点一览表

| 特点 | 详情 |
|---|---|
| 识别序列及酶切位点 | 5′ …… T G ▏C A …… 3′<br>3′ …… A C ▏G T …… 5′ |
| 基因来源 | 幽门螺杆菌（*Helicobacter pylori*）CH4 株系 |
| 蛋白来源 | 大肠杆菌重组表达 |
| 同裂酶 | CviRI，来于 Chlorella 病毒 |
| 储存液 | 10 mM Tris-HCl、50 mM NaCl、1 mM DTT、0.1 mM EDTA、200 μg/mL BSA、50%甘油，pH 7.4 @25℃ |
| 单位定义 | 1 个单位指在 50 μL 的最佳反应体系中 1 小时内降解 1 μg λ DNA 所需要的酶量 |
| 最适反应温度 | 37℃ |
| 最适反应体系 | 50 mM 乙酸钾、20 mM Tris-乙酸、10 mM 乙酸镁、100 μg/mL BSA，pH 7.9 @25℃ |
| 稀释液 | 天净沙 1×通用内切酶稀释液 A |
| 热失活 | 65℃ 20 分钟 |
| 甲基化影响 | CpG（CG 中 C 的 C5 位）甲基化无影响<br>dam（-GATC-中 A 的 N6 位）甲基化无影响<br>dcm（-CCWGG-中第二个 C 的 C5 位）甲基化无影响 |
| 纯度 | 95% SDS-PAGE 检测 |
| 污染 | 无核酸内切酶和外切酶污染 |

## 规格及成分

本产品采用自封袋包装

| 成分 | 编号 | 规格 | 包装 |
|---|---|---|---|
| HpyCH4V 限制性内切酶 5 U/μL | 28-EC3.1.21.4-HpyCH4V | 10 μL | 0.5 mL 红盖管 |
| 天净沙 10×通用内切酶反应液 B | 6-251204B | 0.5 mL | 0.5 mL 绿盖管 |
| 使用手册 | sc28-EC3.1.21.4-HpyCH4V | 1 份 | 1 份 |

## 运输及保存

低温运输，-20℃保存，保存期限为 12 个月。

## 自备试剂

样品 DNA，超纯水，DNA 纯化试剂盒，电泳试剂盒。

## 使用方法

**一、酶切纯化的 DNA**

1. 按下表在一干净离心管中设置 50 μL 体系的酶切反应，用户可以根据需要按比例扩大或缩小反应体系：

| 成分 | 用量 |
|---|---|
| 纯化的 DNA | 0.5-1 μg |
| 天净沙通用内切酶反应液 B | 5 μL |
| 自备超纯水 | 加到 49 μL |
| HpyCH4V 限制性内切酶 | 1 μL |
| 总体积 | 50 μL |

2. 轻柔混均匀后放 37℃保温 1 小时。如果体系小于 50 μL 或保温时间超过 1 小时，建议使用 PCR 仪进行保温，因为 PCR 的热盖可以防止反应体系中的水分蒸发引起的最佳酶切体系改变和酶切效率降低。如果减少酶的用量，可以通过延长酶切时间（如过夜酶切）来达到同样的酶切效果。

**二、酶切未经纯化的 PCR 产物**

3. 以下以 20 μL 体系的 PCR 为例，如果用户的 PCR 体系不是 20 μL，可以按比例改变各成份的用量：

| 成分 | 用量 |
|---|---|
| PCR 反应液 | 20 μL（0.1-0.5 μg DNA） |
| 天净沙通用内切酶反应液 B | 3 μL |
| 自备超纯水 | 加到 29 μL |
| HpyCH4V 限制性内切酶 | 1 μL |
| 总体积 | 30 μL |

4. 轻柔混均匀后放 37℃保温 1-16 小时。建议使用 PCR 仪进行保温，因为 PCR 的热盖可以防止反应体系中的水分蒸发引起的最佳酶切体系改变和酶切效率降低。

**三、常规酶切后处理**

5. 如果需要灭活可以 65℃热灭活 20 分钟去除内切酶的活性以免影响后续反应。
6. 如果下一步是过柱法或磁珠法纯化酶切 DNA，可以不灭活内切酶，因为纯化试剂能化学灭活内切酶。
7. 如果下一步是电泳检测酶切效果后回收所需某一长度的 DNA 片段，也不需要热灭活内切酶，因为电泳上样液中一般都有 SDS 等酶灭活剂，并且电泳时酶和所需 DNA 片段会物理分开。

**四、酶切琼脂糖包埋 DNA**

8. 按常规方法制备琼脂糖包埋 DNA 并用超纯水充分洗涤后待用。

9. 设置酶切反应，下面以 100 μL 琼脂糖凝胶制备的含 1 μg DNA 包埋块为例，如果用户的包埋块体积不是 100 μL，需要按比例改变各成份的用量。反应总体积应该设置成琼脂糖包埋块体积的两倍，酶用量应该是水溶液体系的 5 倍。

| 成分 | 用量 |
|---|---|
| 琼脂糖包埋 DNA | 1 μg DNA |
| 琼脂糖包埋块体积 | 100 μL |
| 天净沙通用内切液 B | 20 μL |
| 自备超纯水 | 加到 195 μL |
| HpyCH4V 限制性内切酶 | 5 μL |
| 总体积 | 200 μL |

10. 脱色摇床上 37℃保温并摇晃 16 小时。

11. 进行后续脉冲电泳等分析。

**关联产品** HpyCH4V 限制性内切酶活性测定试剂盒