

分子生物学

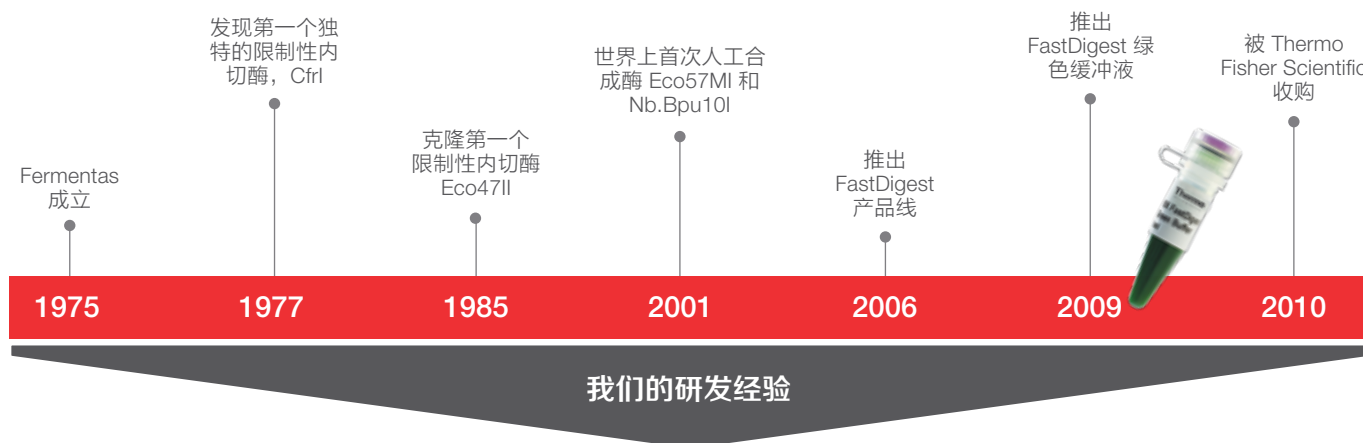
专注酶切 50 年

- 5-15 分钟快速酶切，无星号活性
- 176 种 FastDigest 内切酶，均使用一种通用缓冲液
- 提供绿色缓冲液，酶切后直接电泳

50 年限制性内切酶研究和开发经验

我们对限制性内切酶的研究可以追溯到 1975 年，当时我们启动了一个项目来筛选和表征这些 DNA 切割酶。我们从多个来源收集表达限制性内切酶的细菌样品，例如我们自己的后院、水坑，或者像俄罗斯堪察加半岛、乌兹别克斯坦、冰岛和乌克兰这样的异国地方。我们分离出了 3000 多种不同的细菌菌株，这些菌株产生了 30% 以上现有已知内切酶。

基于我们的专业知识和丰富经验，我们于 2006 年在市场上第一个推出统一酶切系统，该系统包含 176 种 FastDigest™ 限制性内切酶，所有酶均使用一种通用缓冲液。此外，所有 FastDigest 内切酶能够在 5 – 15 分钟内对 DNA 进行完全酶切，不再需要原来的 1 – 2 个小时。FastDigest™ 的命名也反映出其具有在短时间内完全消化 DNA 的能力。



176 种 FastDigest 快速内切酶

>3000 种限制性内切酶生产菌株

拥有 18 种独特的限制性内切酶

>40% 已知限制性内切酶的克隆

>30% 已知限制性内切酶表征

Thermo Scientific™ FastDigest™ 限制性内切酶是一系列用于快速 DNA 酶切的高级限制性内切酶。我们在行业内首家推出通用缓冲液系统、快速酶切方案、与下游实验应用 100% 兼容等特性，引领了限制性内切酶行业的发展方向。

	旧标准 常规限制性内切酶	新标准 FastDigest 限制性内切酶
缓冲液系统	多达 20 种	1种通用缓冲液
双酶切或多酶切反应	受限于缓冲液是否兼容	不受限—所有 176 种酶在通用缓冲液中都具有 100% 活性
酶切时间	1 小时至过夜	5 至 15 分钟
反应产物是否能直接凝胶上样	否	是
与下游应用的兼容性	部分兼容	100% 兼容
星号活性	取决于酶的性质和反应条件	孵育时间短，不产生星号活性
活性定义	在合适的缓冲液中，1 单位酶 60 分钟切割 1µg Lambda DNA	在 FastDigest 缓冲液中，1 µl FastDigest 酶 5 至 15 分钟内切割 1 µg 底物 DNA

严格的质量检测，确保产品的高性能

与 Thermo Scientific 品牌其它分子生物学产品一样，FastDigest 内切酶具有出色的品质和性能，这都要归功于严格的生产过程。该产品是在符合欧盟要求和 ISO 标准的 D 级洁净室中生产的。我们采用严格的质量控制措施，确保批次间一致性，符合 ISO 9001、ISO 14001 和 ISO 13485 标准。

Thermo Scientific 限制性内切酶通过了所有行业标准的质量控制检测，以及独特的标记寡核苷酸测试（LO Assay）。LO Assay 是检测内切脱氧核酸酶、外切脱氧核酸酶和磷酸酶微量活性最灵敏的测试。对于每个产品均提供质量保证，并在产品包装和随附的 CoA 中列出了有效期。在有效期内通过批次监测以满足质量要求。

严格的质量检测

• 功能活性检测

在样本中增加内切酶用量，观察电泳凝胶中的每个条带，如果没有进一步的变化，表示 DNA 已被完全酶切。

• 星号活性检测

使用酶的最大用量，当与在最适反应缓冲溶液中使用对照酶用量孵育 1 μg 底物所得到的酶切图谱相比，观察不到 DNA 片段迁移和片段数量及分布的变化。

• 外切核酸酶 / 内切核酸酶 / 磷酸酶污染

使用最灵敏的标记寡核苷酸测试（LO Assay），检测内切脱氧核酸酶、外切脱氧核酸酶和磷酸酶的微量活性（图 1）。

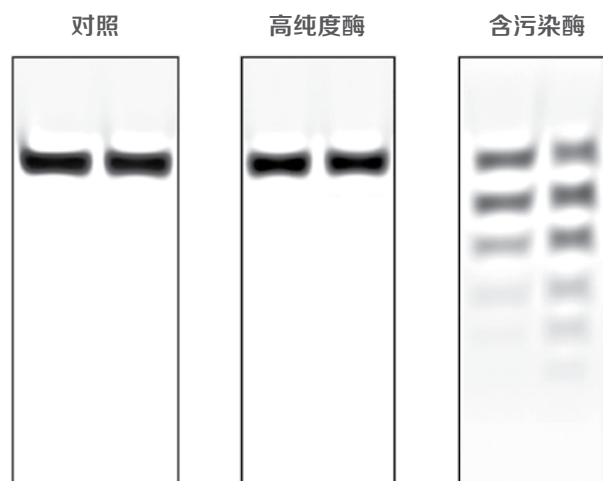


图 1. FAM 标记的单链和双链寡核苷酸不含内切酶识别位点，将其作为荧光标记寡核苷酸测试的底物。将过量的酶与荧光标记的寡核苷酸共同孵育，在变性条件下通过聚丙烯酰胺凝胶进行分离。



酶切，原来如此简单

Thermo Scientific™ FastDigest™ 限制性内切酶是为快速 DNA 酶切专门研发的高级限制性内切酶。在近 50 年内切酶的研究中，我们积累的限制性内切酶生产菌株库是业内最大的菌株库之一。大量可供选择的同裂酶和卓越的生产能力促使这个包含 176 种 FastDigest 限制性内切酶的独特系统的诞生。

所有 FastDigest 限制性内切酶在通用的 FastDigest 缓冲液和 FastDigest 绿色缓冲液中都具有 100% 活性，并可在 5-15 分钟内迅速完成酶切。这就使得任意内切酶组合都能够同一反应管中同时反应，避免了分步酶切。

此外，FastDigest 绿色缓冲液兼具上样缓冲液的功能，可直接将反应物上样进行凝胶电泳，操作更为便利。FastDigest 限制性内切酶可用于酶切质粒、基因组 DNA、病毒 DNA 以及 PCR 产物。酶切时间和实验方案已经过实验验证，每种限制性内切酶及其作用的模板都有相应的酶切时间和实验方案推荐。

特点

- 5-15 分钟内完全酶切
- 所有 FastDigest 内切酶均使用通用缓冲液，且在其中具有 100% 活性
- 酶切后直接进行凝胶电泳
- 提供 176 种限制性内切酶

应用

- 分子克隆
- 酶切图谱分析
- 基因分型
- Southern Blot
- 限制性片段长度多态性 (RFLP) 分析
- 单核苷酸多态性 (SNP) 分析
- Golden Gate 克隆
- 体外转录

通用缓冲液与下游实验100%兼容

DNA/RNA 修饰酶	在 FastDigest 内切酶缓冲液中的活性	货号
DNA Polymerase I, <i>E.coli</i>	100%	EP0041 / EP0042
Klenow Fragment	100%	EP0051 / EP0052
Klenow Fragment, exo-	100%	EP0421 / EP0422
T7 DNA Polymerase	100%	EP0081
T4 DNA Ligase*	75-100%	EL0011 / EL0012
FastAP™ Thermosensitive Alkaline Phosphatase	100%	EF0651 / EF0652 / EF0654
T4 Polynucleotide Kinase	100%	EK0031 / EK0032
T4 DNA Polymerase	100%	EP0061 / EP0062

* T4 DNA 连接酶活性需要 0.5mM ATP。

DNA 修饰酶在 FastDigest 和 FastDigest 绿色缓冲液中都具有 100% 活性，用于下游应用的酶可直接加入酶切反应混合物中，省去了DNA 纯化的步骤。

通用缓冲液和直接凝胶上样

FastDigest 系列限制性内切酶均使用一种通用缓冲液，从而避免了选择缓冲液的烦恼。

为了更加方便，我们研发出了 FastDigest 绿色缓冲液，其与 FastDigest 无色缓冲液一样，在 DNA 酶切和下游实验应用中具有相同的高效率。

该绿色缓冲液包含一种密度试剂和两种示踪染料，从而可以将酶切反应混合物直接上样进行凝胶电泳。蓝色染料在 1% 琼脂糖凝胶中的迁移速度与 3-5 kb DNA 片段接近，并在 424 nm 处出现激发峰；黄色染料在 1% 琼脂糖凝胶中的迁移速度稍快于 10 bp 的 DNA 片段，在 615 nm 处出现激发峰。所有 FastDigest 限制性内切酶在 FastDigest 绿色缓冲液中均具有 100% 的活性。

对于需要用荧光激发进行酶切产物分析的实验应用（如在紫外光下测量浓度），我们建议使用无色的 FastDigest 缓冲液。

特点

- 在通用缓冲液中可使用任意内切酶组合进行双酶切或多酶切
- 无需连续酶切或更换缓冲液
- 反应混合物可直接上样凝胶电泳，无需单独添加上样缓冲液，节省了上样试剂和加样时间



当进行双酶切时，可节约 2 小时以上的时间

常规限制性内切酶

按顺序酶切

- 1 配制 Apal 酶切反应体系 ~ 2 分钟
- 2 37°C 孵育酶切 60 分钟
- 3 配制 XhoI 酶切反应体系 > 2 分钟
- 4 37°C 孵育酶切 60 分钟

总时间 > 2 小时

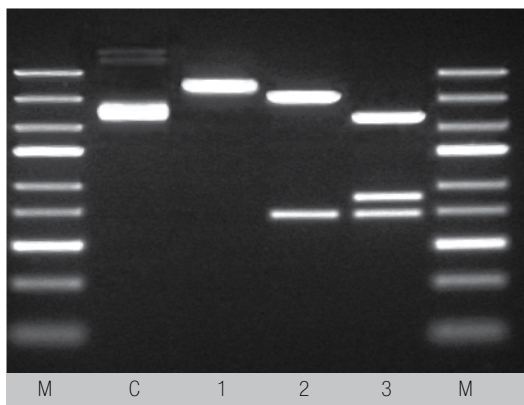
FastDigest 限制性内切酶

一种反应混合物

- 1 只需配制一种反应体系，包含 FastDigest Apal 和 FastDigest XhoI ~2 分钟
- 2 37°C 孵育酶切 5 分钟

总时间 ~7 分钟

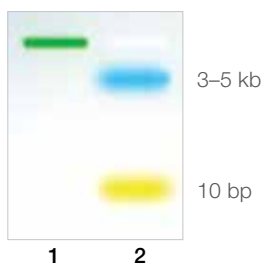
在 FastDigest 绿色缓冲液中，5 分钟完成单酶切、双酶切和三重酶切



酶切 5 分钟，使用以下内切酶进行质粒酶切

- 1: FastDigest EcoRI
- 2: FastDigest EcoRI 和 FastDigest KpnI
- 3: FastDigest EcoRI, FastDigest KpnI 和 FastDigest SmaI
- M: Thermo Scientific™ GeneRuler™ Express Ladder
- C: 未酶切质粒对照

FastDigest 绿色缓冲液



含有 FastDigest 绿色缓冲液的反应混合物:

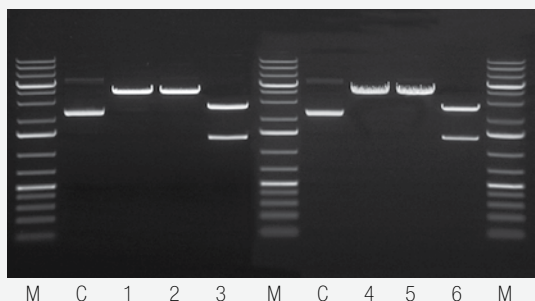
- 1: 电泳前，加入凝胶孔
- 2: 电泳分离



在 5-15 分钟完成 DNA 酶切

- 在通用缓冲液中 5-15 分钟内完成单酶切、双酶切或三重酶切
- 为所有种类的 DNA 模板提供相应的酶切时间（如质粒 DNA、PCR 产物、基因组 DNA）
- 对任何模板都无需过夜酶切
- 由于孵育时间缩短，所以无星号活性
- 高通量应用的理想选择

FastDigest 快速限制性内切酶和常规限制性内切酶的比较



使用 FastDigest 内切酶进行快速酶切，其结果与使用常规内切酶长时间酶切结果一致。

酶切 5 分钟，使用以下内切酶进行质粒酶切:

- 1: FastDigest XhoI, 2: FastDigest Apal, 3: FastDigest XhoI 和 FastDigest Apal

酶切 1 小时，使用以下内切酶进行质粒酶切:

- 4: Apal, 5: XhoI, 6: Apal (1X Tango buffer, 4-fold excess of Apal, 1 小时)和 XhoI (2X Tango buffer, 1 小时)按顺序酶切

M: Thermo Scientific™ GeneRuler™ 1 kb Plus DNA Ladder (货号: SM1334)

C: 未酶切质粒对照

Type IIS 内切酶用于分子克隆

常规的 Type IIP 限制性内切酶通常识别 4-8 个碱基对的短回文序列，并在识别序列内切割 DNA（图 2）。

相反的，Type IIS 限制性内切酶在非回文不对称识别序列外固定距离处切割 DNA，因此在酶切过程中去除了它们自己的结合位点，并生成具有独特末端的 DNA 片段（图 2）。

这些特性被应用于高效克隆方法中，可实现在进行连接和酶切的同时组装多个片段。

Type IIS 克隆的优势

- **单管克隆** — 由于连接产物中的酶切识别位点被去除，因此酶切和连接反应可以同时同一反应管中进行。
- **无痕克隆** — 由于突出末端序列不由内切酶决定，因此不会引入多余序列。
- **多片段组装** — 使用适合的互补末端组合，可以同时组装多个插入片段。



图 2. Type IIP 限制性内切酶（上）和 Type IIS 限制性内切酶（下）的酶切位点示例。

部分 FastDigest Type IIS 限制性内切酶订购信息：

货号	产品名称	规格
FD0293	FastDigest Eco31I (IIS class)	50 reactions
FD0294	FastDigest Eco31I (IIS class)	100 reactions
FD0454	FastDigest Esp3I (IIS class)	20 reactions
FD1014	FastDigest Bpil (IIS class)	20 reactions
FD1074	FastDigest MnlI (IIS class)	50 reactions
FD0034	FastDigest Alw26I (IIS class)	100 reactions
FD0824	FastDigest MbolI (IIS class)	50 reactions
FD2124	FastDigest BmsI (IIS class)	20 reactions
FD0964	FastDigest Mva1269I (IIS class)	50 reactions
FD1934	FastDigest Lgul (IIS class)	20 reactions
FD0874	FastDigest BseGI (IIS class)	100 reactions

FastDigest 限制性内切酶订购信息

产品名称	规格	货号
FastDigest AanI	20	FD2064
FastDigest AasI	25	FD1724
FastDigest AatII	50	FD0994
FastDigest Acc65I	100	FD0904
FastDigest Adel	50	FD1234
FastDigest Ajul	20	FD1954
FastDigest Alul	100	FD0014
FastDigest Alw21I	100	FD0024
FastDigest Alw26I	100	FD0034
FastDigest Alw44I	200	FD0044
FastDigest Apal	300	FD1414
FastDigest BamHI	800/2,500	FD0054/5
FastDigest BclI	300	FD0724
FastDigest BclII	200	FD0064
FastDigest BcuI	20/50	FD1253/4
FastDigest BfrI	20	FD1164
FastDigest BfoI	200	FD2184
FastDigest BglI	200	FD0074
FastDigest BglII	100/200	FD0083/4
FastDigest BmeI390I	100	FD1424
FastDigest BmsI	20	FD2124
FastDigest BoxI	100	FD1434
FastDigest BpiI	20	FD1014
FastDigest BplI	20	FD1314
FastDigest Bpu10I	20	FD1184
FastDigest Bpu1102I	50	FD0094
FastDigest BseDI	20	FD1084
FastDigest BseGI	100	FD0874
FastDigest BseJI	200	FD1714
FastDigest BseLI	100	FD1204
FastDigest BseMI	20	FD1264
FastDigest BseMII	20	FD1404
FastDigest BseNI	100	FD0884
FastDigest BseSI	50	FD1444
FastDigest BseXI	20	FD1454
FastDigest Bsh1236I	100	FD0924
FastDigest Bsh1285I	100	FD0894
FastDigest BshNI	300	FD1004
FastDigest BshTI	20	FD1464
FastDigest Bsp119I	200	FD0124
FastDigest Bsp120I	200	FD0134
FastDigest Bsp1407I	50/100	FD0933/4
FastDigest Bsp143I	40	FD0784
FastDigest BspLI	20	FD1154

产品名称	规格	货号
FastDigest BspOI	20	FD2044
FastDigest BspTI	150	FD0834
FastDigest Bst1107I	100	FD0704
FastDigest BstXI	100	FD1024
FastDigest Bsu15I	50/100	FD0143/4
FastDigest BsuRI	400	FD0154
FastDigest BveI	50	FD1744
FastDigest CaiI	50	FD1394
FastDigest Cfr10I	50	FD0184
FastDigest Cfr13I	100	FD0194
FastDigest CpoI	20	FD0744
FastDigest CseI	20	FD1904
FastDigest CsiI	50	FD2114
FastDigest Csp6I	100	FD0214
FastDigest DpnI	50/100	FD1703/4
FastDigest DraI	200	FD0224
FastDigest Eam1104I	50	FD0234
FastDigest Eam1105I	100	FD0244
FastDigest Eco136II	100	FD0254
FastDigest Eco105I	50	FD0404
FastDigest Eco130I	200	FD0414
FastDigest Eco147I	100	FD0424
FastDigest Eco31I	50/100	FD0293/4
FastDigest Eco32I	200/400	FD0303/4
FastDigest Eco47I	200	FD0314
FastDigest Eco47III	20	FD0324
FastDigest Eco52I	50	FD0334
FastDigest Eco57I	20	FD0344
FastDigest Eco72I	200	FD0364
FastDigest Eco81I	50	FD0374
FastDigest Eco88I	200	FD0384
FastDigest Eco91I	200	FD0394
FastDigest EcoO109I	200	FD0264
FastDigest EcoRI	800/2,500	FD0274/5
FastDigest EheI	20/50	FD0443/4
FastDigest Esp3I	20	FD0454
FastDigest FaeI	20	FD1814
FastDigest FokI	100	FD2144
FastDigest FspAI	20	FD1664
FastDigest FspBI	50	FD1764
FastDigest GsuI	20	FD0464
FastDigest HhaI	200	FD1854
FastDigest Hin1I	100	FD0474
FastDigest Hin1II	100	FD1834

产品名称	规格	货号
FastDigest HincI	200	FD0484
FastDigest HincII	100	FD0494
FastDigest HindIII	800/2,500	FD0504/5
FastDigest HinfI	400	FD0804
FastDigest HpaII	200	FD0514
FastDigest Hpy8I	20	FD1574
FastDigest HpyF10VI	20	FD1734
FastDigest HpyF3I	50	FD1884
FastDigest KfiI	20	FD2164
FastDigest Kpn2I	100	FD0534
FastDigest KpnI	300	FD0524
FastDigest KspAI	50	FD1034
FastDigest LguI	20	FD1934
FastDigest Lsp1109I	100	FD2074
FastDigest MauBI	20	FD2084
FastDigest DraI	100	FD1274
FastDigest MboI	50	FD0814
FastDigest MboII	50	FD0824
FastDigest MsiI	50	FD1214
FastDigest MluI	100	FD0564
FastDigest MnlI	50	FD1074
FastDigest Mph1103I	100	FD0734
FastDigest MreI	20	FD2024
FastDigest MspI	400	FD0544
FastDigest MssI	100	FD1344
FastDigest MunI	20/50	FD0753/4
FastDigest Mva1269I	50	FD0964
FastDigest MvaI	200	FD0554
FastDigest NcoI	20/100/300	FD0573/4/5
FastDigest NdeI	100/300/1,000	FD0583/4/5
FastDigest NheI	50/100	FD0973/4
FastDigest NmuCI	20	FD1514
FastDigest NotI	20/50/250	FD0593/4/6
FastDigest NsbI	50	FD1224
FastDigest OsiI	20	FD1634
FastDigest PaeI	25	FD2204
FastDigest PaeII	20	FD0604
FastDigest PagI	50	FD1284
FastDigest PdiI	50	FD1524
FastDigest PdmI	100	FD1534
FastDigest PfiI	50	FD1784
FastDigest Pfi23II	50	FD0854
FastDigest PfoI	20	FD1754
FastDigest Ppu21I	50	FD1974

产品名称	规格	货号
FastDigest Psp1406I	20	FD0944
FastDigest Psp5II	50	FD0764
FastDigest PspFI	20	FD2224
FastDigest PstI	800/2,500	FD0614/5
FastDigest PvuI	150	FD1554
FastDigest PxyI	100	FD1334
FastDigest PteI	20	FD2134
FastDigest PvuII	20	FD0624
FastDigest PvuIII	400	FD0634
FastDigest RsaI	100	FD2154
FastDigest RsaII	100	FD1124
FastDigest RseI	20	FD2004
FastDigest SacI	100/200	FD1133/4
FastDigest Sall	200	FD0644
FastDigest SaqAI	50	FD2174
FastDigest SatI	20	FD1644
FastDigest Scal	100	FD0434
FastDigest SchI	100	FD1374
FastDigest SdaI	20	FD1194
FastDigest SduI	50	FD0654
FastDigest SfaAI	100	FD2094
FastDigest SfiI	150	FD1824
FastDigest SgSI	100	FD1894
FastDigest SmaI	100/200	FD0663/4
FastDigest SmaII	200	FD1244
FastDigest SsiI	20	FD1794
FastDigest SspI	100	FD0774
FastDigest Taal	20	FD1364
FastDigest TaiI	50	FD1144
FastDigest TaqI	400	FD0674
FastDigest TasI	100	FD1354
FastDigest TatI	20	FD1294
FastDigest TauI	20	FD1654
FastDigest TruI	50	FD0984
FastDigest TscAI	100	FD2104
FastDigest Van91I	100	FD0714
FastDigest VspI	200	FD0914
FastDigest XagI	100	FD1304
FastDigest XapI	50/100	FD1383/4
FastDigest XbaI	300/750	FD0684/5
FastDigest XceI	50	FD1474
FastDigest XhoI	400/1,200	FD0694/5
FastDigest XmaII	20	FD1564
FastDigest XmiI	50	FD1484

更多信息，欢迎访问 thermofisher.com/fastdigest



赛默飞
官方微信



赛默飞
生命科学小助手

免费服务电话：800 820 8982/400 820 8982

信息咨询邮箱：cnbidmarketing@thermofisher.com

www.thermofisher.cn

ThermoFisher
SCIENTIFIC