

## BamHI 快切酶

浓度：20 U/μL

|         |         |
|---------|---------|
| #M10004 |         |
| 包装规格：   | 5000 U  |
|         | 10000 U |
|         | 50000 U |

### 保存及运输条件

干冰或湿冰（冰袋）运输；-20℃ 保存，有效期为 24 个月（储存缓冲液含 50%甘油）。避免反复冻融。

### 活性单位定义

在 37℃ 条件下，于 50 μL 总反应体积中，1 小时内完全消化 1 μg λ DNA 所需的酶量定义为 1 个活性单位（U）。



**警告：**本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

### 产品组成

| 组分              | #M10004<br>S5000<br>(5000 U) | #M10004<br>M0010<br>(10000 U) | #M10004<br>X0050<br>(50000 U) |
|-----------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| BamHI (20 U/μL) | 0.25 mL                      | 0.5 mL                        | 2 x 1 mL                      |
| 10X REv4 Buffer | 1 mL                         | 1 mL                          | 2 x 1 mL                      |

### 识别位点

5'...G↓GATCC...3'  
3'...CCTAG↑G...5'

注：↓ 与 ↑ 示双链 DNA 的切割位置。

### 产品介绍

BamHI 快切酶为重组改造的 II 型限制性内切酶，识别 G/GATCC 并产生 5'-GATC 四碱基突出末端。与普通版本相比，星号活性大幅降低，是分子克隆中应用最广泛的酶切位点之一。37℃ 下 5~15 分钟完成酶切，对 dam、dcm、CpG 甲基化均不敏感。

### 产品优势

- 高保真改造：星号活性显著低于野生型，长时温育依然特异可靠；
- 快速酶切：37℃ 下 5~15 分钟内完成；
- 在专用配套缓冲液中 100% 活性，兼容 200 余种内切酶同管反应；
- 酶切片段与 BglII 等产生的 GATC 粘性末端互补，可互换连接。

### 产品应用

- 基因克隆与重组 DNA 构建；
- 表达载体构建；
- CRISPR/Cas9 基因编辑验证；
- DNA 指纹图谱；
- Golden Gate 组装。

### 建议反应条件

- 1X REv4 Buffer；
- 37℃ 温育 5~15 min；
- 本酶不可通过加热失活，反应结束后建议纯化去除酶

蛋白。

### 操作步骤

1. 酶切反应体系配制（20 μL 体系）

在冰上按如下顺序配制反应体系：

| 组分                  | 使用量      |
|---------------------|----------|
| 无核酸酶水               | 至 20 μL  |
| 10X REv4 Buffer     | 2 μL     |
| 底物 DNA              | ≤1 μg    |
| BamHI 快切酶 (20 U/μL) | 0.5~1 μL |
| 总体积                 | 20 μL    |

注：加酶量不宜超过反应总体积的 1/10，请根据底物类型与用量适当调整。

2. 混匀与酶切反应

- 1) 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；
- 2) 37℃ 温育 5~15 min（质粒 DNA）；
- 3) 或 15~30 min(PCR 产物)、30~60 min(基因组 DNA)；
- 4) 可根据底物情况延长温育时间，直至 DNA 完全消化。

### 3. 反应终止（可选）

1) 本酶不能通过加热失活，建议使用 DNA 纯化柱、凝胶回收或酚/氯仿抽提去除酶蛋白；

2) 或加入 EDTA 至终浓度 10 mM 螯合  $Mg^{2+}$  以终止反应。

### 4. 产物检测

1) 酶切产物可直接进行琼脂糖凝胶电泳分析；

2) 如需上样缓冲液，可取适量产物与凝胶上样缓冲液混匀后上样。

### 5. 双酶切或多酶切（可选）

1) 每种内切酶的用量为 1  $\mu$ L，并根据需要适当扩大反应体系；

2) 所有内切酶的体积总和不得超过总反应体系的 1/10；

3) BamHI 在 1X REv4 Buffer 中具有 100%活性，可与多数内切酶同管反应；若所用的几种内切酶最适反应温度不同，应先在最适温度较低的酶反应温度下进行酶切，再加入最适温度较高的酶于其最适反应温度下继续反应。

## 注意事项

· 推荐 37°C 反应，加酶量不超过反应总体积的 1/10；

· 本酶不能通过加热失活，反应结束后建议使用 DNA 纯化柱、凝胶回收或酚/氯仿抽提去除酶蛋白；

· 酶过量时电泳过程中酶可能与 DNA 保持结合导致条带迁移异常，可额外购买适配的核酸电泳染料（含 SDS）上样或终浓度 0.1%–0.5% SDS 处理以解离；

· 避免甘油终浓度超 5% 及过夜温育，以防星号活性。