

Mspl 快切酶

浓度：20 U/μL

#M10013	
包装规格：	2500 U
	5000 U
	25000 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	#M10013 S2500 (2500 U)	#M10013 M5000 (5000 U)	#M10013 X0025 (25000 U)
Mspl (20 U/μL)	0.125 mL	0.25 mL	1 mL
10X REv4 Buffer	1 mL	1 mL	1 mL

识别位点



注：↓ 与 ↑ 示双链 DNA 的切割位置。

产品介绍

Mspl 快切酶为重组表达的 II 型限制性内切酶，识别 C/CGG 并切割，产生 2 碱基 5′ 突出末端。为 HpaII 的同裂酶，但二者对甲基化的响应不同：MspI 不受内侧 C 甲基化影响，常与 HpaII 配对用于 DNA 甲基化状态分析。37℃ 下 5~15 分钟完成酶切，在专用配套缓冲液中拥有 100% 活性。

产品优势

- 快速高效：37℃ 条件下 5~15 分钟内完成酶切；
- 甲基化耐受性强：识别序列内侧 C 被甲基化时仍可正常切割，与 HpaII 形成互补的甲基化分析工具对；
- 在专用配套缓冲液中 100% 活性，支持同管双酶切；
- 重组表达、纯度高，批次稳定。

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 |
| Mspl 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 μ 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) MspI 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；
- 当 CCGG 序列外侧 C 被甲基化时无法酶切（HpaII 亦然）；内侧 C 甲基化不影响切割（此点与 HpaII 不同），请根据实验目的正确选酶；

- 对 dam、dcm 甲基化不敏感；
- 本酶不能通过加热失活，反应后建议柱纯化或胶回收去除酶蛋白。