

NheI 快切酶

浓度：20 U/μL

#M10014	
包装规格：	500 U
	1000 U
	5000 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	#M10014 S0500 (500 U)	#M10014 M1000 (1000 U)	#M10014 X5000 (5000 U)
NheI (20 U/μL)	0.025 mL	0.05 mL	0.25 mL
10X REv4 Buffer	1 mL	1 mL	1 mL

识别位点

5'...G↓CTAGC...3'

3'...C GATC↑G...5'

注：↓ 与 ↑ 示双链 DNA 的切割位置。

产品介绍

NheI 快切酶为高保真工程化重组酶，识别 G/CTAGC 并产生 5'-CTAG 四碱基突出末端，可与 XbaI、SpeI、AvaII 的酶切产物高效互连，是多载体拼接与定向克隆的常用酶。对 dam、dcm 甲基化不敏感，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

- 高保真改造：星号活性显著降低，长时反应特异性更佳；

- CTAG 粘性末端家族成员：产物可与 SpeI、XbaI、AvaII 切割片段无缝连接，载体改造灵活；
- 快速酶切：37℃ 下 5~15 分钟完成；
- 甲基化兼容性好：对 dam、dcm 甲基化不敏感。

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；
- 80℃ 加热 20 min 可使酶完全失活。

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
NheI 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) 80℃ 加热 20 min，可使酶完全失活，停止反应；

2) 或加入 EDTA 至终浓度 10 mM 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) NheI 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；
- 对 dam、dcm 甲基化不敏感，但部分 CpG 甲基化与位点重叠时会阻断酶切；
- 反应体系中盐浓度高于 100 mM 时酶活受抑制，请使用配套缓冲液；
- 80°C 加热 20 分钟可灭活。