

QuickCut™ Pvu I

CGATCG
GCTAGC

Code No.: 1625
包装量: 25 µl (25 次)

运输温度: -20°C
保存温度: -20°C

附带试剂:

10X QuickCut Buffer 500 µl
10X QuickCut Green Buffer 500 µl

制品说明:

QuickCut 限制酶是一类快速切断基质 DNA 的限制酶。所有 QuickCut 限制酶在 10X QuickCut Buffer 和 10X QuickCut Green Buffer 两种通用缓冲液中的活性可达 100%。可在 5–30 分钟内切断基质 DNA, 如质粒 DNA、PCR 产物等。这样可以在同一个反应体系内任意组合多种限制酶同时切断基质 DNA, 操作简便, 节省时间, 避免了分步酶切的繁琐操作。

每种 QuickCut 限制酶产品均附带两种通用缓冲液: 10X QuickCut Buffer 和 10X QuickCut Green Buffer。10X QuickCut Green Buffer 中含有电泳时所必需的色素等试剂, 酶切产物可直接进行电泳检测, 使用更加方便。其中蓝色染料在 1%琼脂糖凝胶中与 3–5 kb DNA 片段的迁移速度相当; 黄色染料在 1%琼脂糖凝胶中与 10 bp DNA 片段的迁移速度相当。

酶贮存液:

10 mM Tris-HCl, pH8.0
100 mM KCl
0.1 mM EDTA
1 mM DTT
0.01% BSA
0.15% TritonX-100
50% Glycerol

起 源: *Escherichia coli* carrying the plasmid encoding Pvu I gene

操作方法:

1. 按照下表配制反应液:

	线性 DNA	质粒 DNA	PCR 产物
10X QuickCut Buffer* 或 10X QuickCut Green Buffer*	1 µl–5 µl	1 µl–5 µl	1 µl–3 µl
DNA	≤1 µg	≤1 µg	≤0.2 µg
QuickCut Pvu I	1 µl	1 µl	1 µl
灭菌水	Up to 10 µl–50 µl	Up to 10 µl–50 µl	Up to 10 µl–30 µl

*: 反应体系不同, 10X Buffer 的添加量不同, 请确保终浓度为 1X。

2. 轻轻混匀后瞬时离心。

3. 37°C 保温 5~15 min*。

*: 线性 DNA 保温 5 min;
质粒 DNA 保温 15 min;
PCR 产物保温 5 min。

活性检测:

1 µl QuickCut 限制酶在 50 µl 1X QuickCut Buffer 或 1X QuickCut Green Buffer 的反应体系中, 在 37°C 条件下, 经过 5 min 反应, 将 1 µg λ DNA 完全消化所需要的酶量。

质量控制:

1) 功能检测:

在 1 µg 线性 DNA 中加入 1 µl QuickCut 限制酶, 在 50 µl 反应体系中, 37°C 保温 5 min, 能完全消化线性 DNA。

2) Star Activity Test:

在 1 µg DNA 中加入 1 µl QuickCut 限制酶, 进行 16 hr 酶切反应, 然后进行琼脂糖电泳, DNA 片段的电泳谱带不发生变化。

3) Labeled Oligonucleotide Assay (LOA) Test:

在荧光标记的寡核苷酸中加入 1 µl QuickCut 限制酶, 37°C 保温 1 hr, 分解率小于 10%。

甲基化的影响:

受 CG methylase 的影响, 但不受 dam methylase 的影响。

Star 活性:

Mn²⁺存在条件下, 识别序列会发生变化。

使用注意:

- 1) 因该酶切出的突出末端比一般的 2 个碱基突出末端的连接效率低, 所以必须使用平滑末端的连接条件。
- 2) 不建议进行 16 hr 以上酶切, 易导致星活性。
- 3) 使用 QuickCut 限制酶进行双酶切或多酶切反应时, 加入限制酶的总体积不能超过反应体系的 1/10 量; 如果各酶的反应温度不同, 建议按低温到高温的顺序加入相应的 QuickCut 限制酶进行分步酶切反应。
- 4) 10X QuickCut Green Buffer 可能会干扰酶切产物的荧光分析。因此, 酶切产物荧光分析检测时推荐使用无色的 10X QuickCut Buffer。
- 5) 10X QuickCut Green Buffer 如出现沉淀, 室温下振荡 5 分钟可使沉淀完全溶解, 不影响使用。

QuickCut is a trademark of TAKARA BIO INC.

注意

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, 不能用作食品、化妆品或家庭用品等。

未经 TAKARA BIO INC. 书面许可授权或批准, 不得制造、许诺销售、销售、进口 Takara 产品, 或者使用 Takara 产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权, 请联系我们, 或访问我们网站

www.takara-bio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

v201712Da