

RapidCut PvuI Restriction Endonucleases

RapidCut PvuI 快速限制性内切酶

产品编号	产品名称	规格
BL1679A	RapidCut PvuI 快速限制性内切酶	30 T

产品简介:

本产品是一系列经过基因工程重组的快速限制性内切酶,适用于质粒 DNA、PCR 产物或基因组 DNA 等的快速酶切。所有快速内切酶在通用的 RapidCut Buffer 中都具有优良的活性,能够在 5~15 分钟内完成酶切。RapidCut Color Buffer 包括红色和黄色示踪染料,可将产物直接用于凝胶电泳。Color Buffer 的红色染料与 2500 bp 双链 DNA 片段在 1% 琼脂糖凝胶中迁移速率接近;黄色染料与 10 bp 双链 DNA 片段在 1% 琼脂糖凝胶中迁移速率接近。

产品组分:

组分名称	规格
RapidCut PvuI	30 μ L
10 \times RapidCut Buffer	1 mL
10 \times RapidCut Color Buffer	1 mL

酶切位点:

5'...C G A T \downarrow C G...3'
 3'...G C \uparrow T A G C...5'

产品特点:

- ◇ 通用缓冲液
- ◇ 快速内切酶,可在 5~15 min 内完成反应
- ◇ 3 h 温育未表现星号活性

失活条件

80°C温育 20 min。

质量控制:

功能活性检测:

37°C下,在 20 μ L 通用 RapidCut 反应体系中,1 μ L RapidCut PvuI 能够在 15 min 内完全消化 1 μ g λ DNA (HindIII digest)。

超长时间温育检测:

37°C下,在 20 μ L 通用 RapidCut 反应体系中,将 1 μ L RapidCut PvuI 与 1 μ g λ DNA (HindIII digest)共同温育 3 h,未检测到其他核酸酶污染或星号活性引起的底物非特异性降解。更长时间酶切可能出现星号活性。

酶切 - 连接 - 再酶切检测:

37°C下,使用 20 倍酶量的 RapidCut PvuI 消化 DNA 底物,回收酶切产物,在 22°C下使用 T4 DNA Ligase 可以将超过 90% 的酶切产物重新连接。将连接产物再次回收后,使用相同的内切酶可以重新切开 95% 以上的连接产物。

蓝白斑检测

使用 1 μ L RapidCut PvuI 消化含有 lacZ α 基因且仅在该基因上具有 1 个酶切位点的特定载体。将酶切产物重新连接后转化到大肠杆菌感受态细胞中,涂布在含有 X-gal、IPTG 和相应抗生素的 LB 平板培养基上生长。成功连接的 β -半乳糖苷酶基因可以正确表达,并生长出蓝色菌落;而因酶切末端降解等原因未能重新连接的产物将得到白色菌落。对于 RapidCut 系列限制酶而言,白色菌落的比例应当小于 1%。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。



使用方法:

1. DNA 快速酶切流程

(1) 在冰上按如下建议的加样顺序配制反应体系:

组分	质粒 DNA	PCR 产物	基因组 DNA
ddH ₂ O	15 μL	16 μL	30 μL
10× RapidCut Buffer 或 10× RapidCut Color Buffer	2 μL	3 μL*	5 μL
底物 DNA	2 μL (up to 1 μg)	10 μL (~ 0.2 μg)	10 μL (5 μg)
RapidCut PvuI	1 μL	1 μL	5 μL
Total	20 μL	30 μL	50 μL

*: 本体系适用于经过纯化的 PCR 产物酶切。未纯化的 PCR 产物具备一定的离子强度, 10× RapidCut Buffer 加入量可适当减少至 2 μL。但由于 DNA 聚合酶同时具有外切酶活性, 会影响酶切产物, 因此如下一步需进行克隆等操作, 建议酶切前对 PCR 产物进行纯化。

- (2) 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;
- (3) 37°C 温育 15 min (质粒), 或 15~30 min (PCR 产物), 或 30~60 min (基因组 DNA);
- (4) 80°C 温育 20 min 即可使酶失活, 停止反应 (可选);
- (5) 如果使用 RapidCut Color Buffer 进行酶切反应, 得到的产物可以直接进行上样电泳。

2. 双酶切或多酶切

- (1) 每种快速内切酶的用量为 1 μL, 并根据需要适当扩大反应体系;
- (2) 所有快速内切酶的体积总和不得超过总反应体系的 1/10;
- (3) 如果所用的几种快速内切酶的最适反应温度不同, 应先以最适温度低的酶开始酶切, 再添加最适温度较高的酶, 在其最适反应温度下进行酶切反应。

3. 适用于质粒的扩大反应体系

组分	用量				
DNA	1 μg	2 μg	3 μg	4 μg	5 μg
RapidCut PvuI	1 μL	2 μL	3 μL	4 μL	5 μL
10× RapidCut Buffer 或 10× RapidCut Color Buffer	2 μL	2 μL	3 μL	4 μL	5 μL
ddH ₂ O	Up to 20 μL	Up to 20 μL	Up to 30 μL	Up to 40 μL	Up to 50 μL

注: 如果总反应体系大于 20 μL, 应适当增加温育时间, 尽量使用水浴、金属浴或沙浴。

不同 DNA 中的酶切位点数量

λDNA	ΦX174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
3	0	1	2	2	0	1	7

甲基化修饰影响

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
无影响	无影响	剪切受阻	无影响	无影响

在不同品牌反应缓冲液中的兼容性

	RapidCut Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB CutSmart® Buffer	Takara QuickCut™ Buffer
活性	100%	12.5%	100%	12.5%

注意事项:

- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
- 2、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

-20°C 储存, 2 年有效。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。

