Pml I

货号：BR1G132

V01

产品概述

宝锐快切系列的限制性内切酶是经过基因工程重组改造，可在 5-15 min 内完成 DNA 精准切割的快速限制性内切酶。适用于质粒 DNA、PCR 产物以及基因组 DNA 等多种核酸底物的快速酶切反应。所有快切系列内切酶在 10×Cut-Buffer 通用缓冲液中均可保持 100%酶活性， 本品支持在单一反应体系内实现多种内切酶同步酶切，省去分步酶切操作，从而有效简化实验流程。其识别和切割序列如下：

5'...CAC↓GTG...3'

3'...GTG↑CAC..5'

产品组分

Components	BR1G132-01 100 T
Pml I	100 μL
10×Cut-Buffer	1×1 mL

保存条件

-20±5°C存储。

适用范围

基因组 DNA，质粒 DNA 和 PCR 产物的酶切。

注意事项

1. 本产品仅作科研用途，不用于临床诊断。
2. 使用前应混匀，避免反复冻融。
3. 限制性内切酶添加体积不超过反应体积的 1/10。
4. 不建议进行 3 h 以上的酶切，过长时间酶切可能会导致星活性。

使用方法

1. DNA 快速酶切流程

1.1 反应体系配制（冰上操作）：

组分	质粒 DNA	PCR 产物	基因组 DNA
10×Cut-Buffer	2 μL	3 μL*	5 μL
Pml I	1 μL	1 μL	5 μL
底物 DNA	1 μg	0.2 μg	5 μg
ddH_2O	To 20 μL	To 30 μL	To 50 μL

*反应体系可根据实际需求等比例放大或缩小。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×Cut-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，会影响酶切产物的末端完整性，因此如下一步需进行克隆等操作，推荐对 PCR 产物进行纯化后再酶切，避免影响克隆效率。

1.2 轻弹管壁混匀，瞬时离心收集至管底。

1.3 37°C温育 15 min (质粒 DNA)，或 15-30 min (PCR 产物)，或 30-60 min (基因组 DNA)。

2. 双酶切或多酶切

2.1 每种内切酶的用量依旧参考上表，可根据需要适当扩大或缩小反应体系，但要注意调整 Buffer 用量确保其终浓度为 1×。

2.2 所有内切酶的总体积不得超过总反应体系的 1/10。

2.3 如果选用的几种内切酶的反应温度不同，应先以最适反应温度低的酶开始酶切，再添加最适温度较高的酶，以较高的温度进行孵育。

3. 甲基化修饰影响

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

4. 不同 DNA 中的酶切位点数量

pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2	λDNA	ΦX174	pBR322	pUC57
0	0	0	10	3	0	0	0

5. 在不同反应缓冲液中的活性

反应缓冲液	10×Cut-Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB rCutSmart™ Buffer	Takara QuickCut™ Buffer
活性	100%	＜12.5%	100%	＜12.5%

6. 失活条件

80℃温育 20 min。