

GXFast PvuI I

REF: GR210642S

5'...C A G C T G...3'
3'...G T C G A C...5'



储运条件

-20℃

产品组成

组分	规格
GXFast PvuI I	200 µl
10× CutOne™ Buffer	2×1 ml
10× CutOne™ Color Buffer	2×1 ml

产品简介

GXFast 快速内切酶是一系列经过基因工程重组、能够在5~15 分钟内精确完成 DNA 切割的限制性内切酶，适用于质粒 DNA、PCR 产物或基因组 DNA 等的快速酶切。GXFast 快速内切酶具有如下特点：5~15 分钟内即可完成酶切；共用一种酶切 Buffer，大大简化酶切反应体系；良好的酶活冗余度，轻松应对底物过量或困难模板酶切。此外，晶欣生物去磷酸化、连接试剂在 CutOne™ 酶切Buffer 中具有 100% 活性，支持一管化反应，提升“酶切 - 修饰- 连接”的体验。

建议反应条件

1× CutOne™ 缓冲液；

37℃温育；

参照“DNA 快速酶切流程”配制反应体系。

失活条件

不可热失活，请使用酚氯仿抽提或柱纯化。

质量控制

功能活性检测

最适反应温度下，在 20 µl 反应体系中，1 µl GXFast PvuI I 能够在 15 min 内完全消化 1 µg λDNA。

超长时间温育检测

最适反应温度下，将 1 µl GXFast PvuI I 与 1 µg λDNA 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，延时酶切可能出现星号活性。

酶切 - 连接 - 再酶切检测

最适反应温度下，使用 1 µl GXFast PvuI I 消化底物，回收酶切产物。在 22℃下使用适量T4 DNA 连接酶可以将酶切产物重新连接。将连接产物再次回收后，使用相同的内切酶可以重新切开连接产物。

非特异性内切酶活性检测

最适反应温度下，将 1 µl GXFast PvuI I 与 1 µg 超螺旋质粒 DNA 共同温育 4 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测，质粒 DNA 仍然处于超螺旋状态。

图标注释

- 快速内切酶，可在 5~15 min 内完成反应
- 最适反应温度为 37℃
- 受 EcoBI 甲基化影响，序列可能重叠，剪切可能受影响
- 不可热失活
- 3 h 温育未表现星号活性，延时酶切可能出现星号活性

使用方法

1. DNA 快速酶切流程

	质粒 DNA	PCR 产物	基因组 DNA
ddH ₂ O	15 μ l	16 μ l	30 μ l
10 \times CutOne™ Buffer 或 10 \times CutOne™ Color Buffer	2 μ l	3 μ l ^a	5 μ l
底物 DNA	2 μ l (up to 1 μ g)	10 μ l (~0.2 μ g)	10 μ l (5 μ g)
GXFast PvuI I	1 μ l	1 μ l	5 μ l
Total	20 μ l	30 μ l	50 μ l

a. 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 \times CutOne™ Buffer 加入量可适当减少至 2 μ l。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 $^{\circ}$ C 温育 15 min（质粒），或 15~30 min（PCR 产物），或 30~60 min（基因组 DNA）；
- ④ 氯仿抽提或柱纯化（可选）。

2. 双酶切或多酶切

- ① 每种快速内切酶的用量为 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，应首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。

	1 μ g	2 μ g	3 μ g	4 μ g	5 μ g
DNA	1 μ g	2 μ g	3 μ g	4 μ g	5 μ g
GXFast PvuI I	1 μ l	2 μ l	3 μ l	4 μ l	5 μ l
10 \times CutOne™ Buffer 或 10 \times CutOne™ Color Buffer	2 μ l	2 μ l	3 μ l	4 μ l	5 μ l
Total	20 μ l	20 μ l	30 μ l	40 μ l	50 μ l

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

不同 DNA 中的酶切位点数量

λ DNA	Φ X174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
15	0	1	2	2	3	3	24

甲基化修饰影响

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
无影响	无影响	无影响	无影响	序列可能重叠 剪切可能受影响

在不同反应缓冲液中的活性

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