



本社 名古屋市中区新栄一丁目33-1 TEL 052-241-5311 お問い合わせ labtas-iq-ppdhd@rikaken-hd.co.jp



〒460-0007 名古屋市中区新栄一丁目33番1号 TEL:052-241-5351(代)



〒930-0834 富山県富山市問屋町三丁目1番33号 TEL:076-451-4545(代)

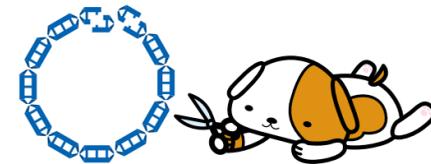


〒920-1158 石川県金沢市朝霧台二丁目27番地 TEL:076-263-2011(代)



〒981-0933 仙台市青葉区柏木二丁目3番28号 TEL:022-233-1717

LABTASスペシャルサイト | <https://labtas.com/>



SpeedCut Enzyme DNA Marker

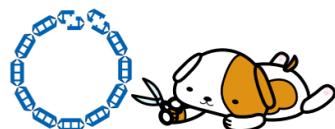


目次 | Table of contents

制限酵素の使用説明 02

SpeedCut Enzyme概要 03

SpeedCut Bufferシステム 04



SpeedCut <i>Afa</i> I 04	SpeedCut <i>Hha</i> I 05	SpeedCut <i>Sac</i> I 07
SpeedCut <i>Afl</i> II 04	SpeedCut <i>Hind</i> III 06	SpeedCut <i>Sac</i> II 07
SpeedCut <i>Alu</i> I 04	SpeedCut <i>Hinf</i> I 06	SpeedCut <i>Sma</i> I 07
SpeedCut <i>Apa</i> I 04	SpeedCut <i>Hpa</i> I 06	SpeedCut <i>Sna</i> B I 07
SpeedCut <i>Bam</i> H I 04	SpeedCut <i>Kpn</i> I 06	SpeedCut <i>Spe</i> I 08
SpeedCut <i>Bgl</i> II 04	SpeedCut <i>Mlu</i> I 06	SpeedCut <i>Sph</i> I 08
SpeedCut <i>Bln</i> I 05	SpeedCut <i>Nco</i> I 06	SpeedCut <i>Stu</i> I 08
SpeedCut <i>Cla</i> I 05	SpeedCut <i>Nde</i> I 06	SpeedCut <i>Xba</i> I 08
SpeedCut <i>Dpn</i> I 05	SpeedCut <i>Nhe</i> I 06	SpeedCut <i>Xho</i> I 08
SpeedCut <i>Dra</i> I 05	SpeedCut <i>Not</i> I 07	SpeedCut <i>Sal</i> I 08
SpeedCut <i>Eco</i> R I 05	SpeedCut <i>Pst</i> I 07	SpeedCut <i>Sfi</i> I 08
SpeedCut <i>Eco</i> R V 05	SpeedCut <i>Pvu</i> I 07	
SpeedCut <i>Hae</i> III 05	SpeedCut <i>Pvu</i> II 07	

SpeedCut Enzyme データ 09

操作方法 10

メチル化の影響 11

Q & A 12

DNA Maker 製品紹介 13



制限酵素の使用説明

◆分類

現在、発見されている制限酵素はその反応に必須な因子や切断部位の特性等から次の3つの型に大きく分類されます。

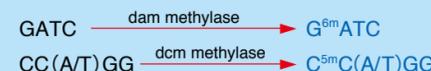
大分類	反応に必須な因子	切断点	酵素例
I型	ATP, S-アデノシルメチオニン, Mg ²⁺	認識部位と切断部位は異なり、切断部位は一定でない	<i>Eco</i> B, <i>Eco</i> K
II型	Mg ²⁺	認識部位内、あるいは、ごく近傍で特定の部位を切断する	<i>Eco</i> R I, <i>Bam</i> H I
III型	ATP, Mg ²⁺	認識部位と切断部位は異なるが、特定の部位を切断する	<i>Eco</i> P I, <i>Hinf</i> III

これらのうち遺伝子工学実験で用いられているのは一般にII型酵素であり、現在市販されている制限酵素はII型に属しています。制限酵素はその反応条件、基質となるDNAの種類により、切断状況、Star活性の出現頻度等に差異が観察され、その程度も酵素によって千差万別です。したがって制限酵素を使用する際には、これらの条件に十分な注意を払う必要があります。以下に制限酵素を使用する際に気を付けるべき注意点を紹介いたします。

◆注意事項

1.メチル化の影響

DNAメチル化酵素を持つ宿主菌から精製したDNAは、特定の配列の一部塩基がメチル化されていることがあるため、この特定部位を認識する制限酵素を使用してもほとんど切断されません。メチル化を受ける部位はDNAの種類、宿主の種類により異なり、例えば、大腸菌の場合は以下2パターンが主に知られています。



通常の形質転換によく使用される大腸菌株 (C600, HB101, JM109等) は、dam methylase, dcm methylaseを保持しているため、これらの菌株から調製したDNAを使うときはメチル化の影響に注意する必要があります。また、動物由来のDNAの場合、CG配列は^{5m}CGとなっていることが多く、植物由来のDNAの場合、CGおよびCNG配列は^{5m}CGおよび^{5m}CNGとなっていることが多くなります。

本パンフレットでは、dam methylase, dcm methylase, CG methylaseの影響を受ける制限酵素については、それぞれの酵素の紹介ページにメチル化の影響として注意点が記載されています。SpeedCut制限酵素を使用する際には、注意点をご確認ください。また、11ページには、メチル化により切断活性に影響を受ける制限酵素の一覧を紹介していますので、ご活用ください。

2.部分分解

基質DNAに対して切断が予想される制限酵素を用いても十分に切断されない場合、メチル化や酵素の失活の他にDNAの純度、反応障害物の混入、基質となるDNAの種類等が関係していることがあります。

基質DNA中の認識サイトの数から算出される「1μgのDNAの完全分解に必要な制限酵素の推定量」と「実際量」には違いが生じることがあり、これらの違いは、酵素とその認識サイト周辺の高次構造との相性によるものだと考えられています。例として、制限酵素*Nae* Iでは、pBR322 DNAにおいて極端に切断されにくいサイトがあります (Site Preference)。また、反応液組成 (spermidineの添加) によりその切断順序が変わることもあります。

3.Star活性

制限酵素の中には、特定の反応条件下で使用するにより、その特異性が低下して本来の認識配列とは異なった塩基配列のDNAを切断するものがあります。この認識配列のゆるみ現象を制限酵素のStar活性と呼んでいます。Star活性の出現頻度は酵素、基質DNA、反応条件により異なりますが、ほぼ全ての制限酵素にStar活性が生じる可能性があり、認識配列のゆるみ他にDNAの片鎖に切れ目が入るニック活性が観察されることもあります。各酵素の紹介ページには、Star活性が生じやすい条件を記載しています。

4.DNA結合物質

制限酵素反応後の電気泳動において、バンドが確認できない、バンドが広がる、バンドの移動度がおかしい等のトラブルが起きることがあります。これは、酵素タンパク質自体や他の夾雑タンパク質がDNAに絡まっているため、DNAがゲル中に入らなかったり、DNAがエチジウムブロマイドにより染色されなくなったりすることが原因であると考えられます。このような現象がみられる場合には、SDS等の変性剤を最終濃度0.1%程度になるようにサンプルに添加し泳動すると改善されることがあります。

5.その他

制限酵素の保存温度：-20°C。

SpeedCut Enzyme概要

製品説明

各種クローニング関連実験において、制限酵素によるDNAの切断処理は時間がかかるステップです。通常の制限酵素の反応時間は1時間からOvernightなど比較的長いことが多いですが、SpeedCut Enzymeは短時間(5-30分)でのDNAの切断が可能です。すべてのSpeedCut Enzymeはキットに含まれる同一のBuffer(10×SpeedCut Bufferまたは10×SpeedCut Green Buffer)中で反応することが確認されており、1tubeで同時に多数の制限酵素でDNAを処理することができます。

このため、SpeedCut Enzymeを使用することで、実験時間を短縮できます。
また、SpeedCut Enzymeは厳格に品質コントロールされた高品質な制限酵素であり、DNA切断実験に最適です。

・反応時間

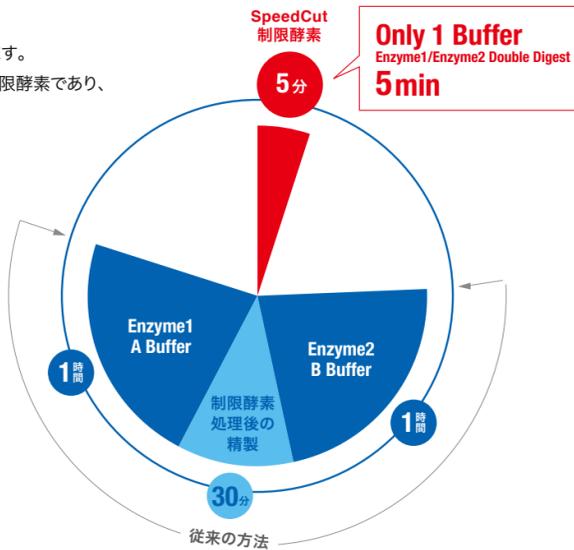
わずか5-30min

・簡便な操作

共通バッファで反応可能、
反応後そのまま電気泳動可能

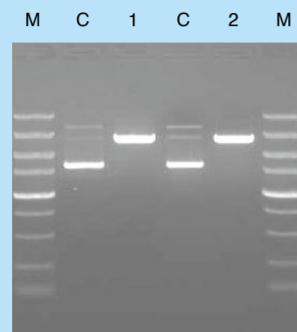
・品質保証

Labeled Oligonucleotide Assay (LOA) 検査済、
純度保証



【SpeedCut Enzyme処理実験例】

図1. BamH I単独でのプラスミド切断



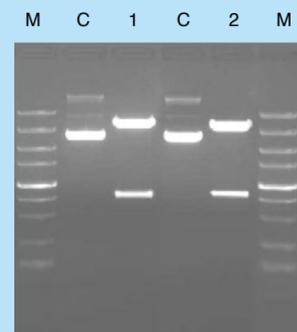
M: DNA Marker 5000

C: pUC19プラスミド

1: SpeedCut BamH IでSpeedCut Buffer中、
pUC19を5min 処理

2: SpeedCut BamH IでSpeedCut Green Buffer中、
pUC19を5min 処理

図2. Hind IIIとPst Iでのプラスミド切断



M: DNA Marker 5000

C: pBR322プラスミド

1: SpeedCut Hind III/Pst IでSpeedCut Buffer中、
pBR322を5min 処理

2: SpeedCut Hind III/Pst IでSpeedCut Green Buffer中、
pBR322を5min 処理

SpeedCut Bufferシステム

SpeedCut Enzymeには2種類のバッファ(10×SpeedCut Buffer、10×SpeedCut Green Buffer)がキットに含まれます。すべてのSpeedCut Enzymeはこれらのバッファ中で100%の活性を出せるように設計されています。10×SpeedCut Green Bufferは比重剤と泳動用の色素が含まれているため、制限酵素反応後、Loading Bufferを加えず、直接に電気泳動に使用することが可能です。1%アガロース電気泳動の場合、青色の色素は3-5 kb DNAフラグメント、黄色の色素は10 bp DNAフラグメントの位置に泳動されます。なお10×SpeedCut Green Bufferに含まれる比重剤と色素は酵素の活性には影響を与えないものの、特定波長の光を吸収するため、吸光度測定などの実験には10×SpeedCut Green Bufferはおすすめできません。



1.SpeedCut Green Buffer電気泳動前
2.SpeedCut Green Buffer電気泳動後

SpeedCut Afa I

G T A C LT-10-SC-601 50 μl(50回)
C A T G 定価 6,500円

1 μl SpeedCut Afa I の切断反応					
Linear Substrate (λ DNA)		Plasmid DNA (pUC19)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	5	100%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Acidiphilium faciens*
- 活性測定用基質 λ DNA
- メチル化の影響 認識部位に続く塩基配列によってはCG methylaseの影響を受けることがある。

SpeedCut Alu I

A G C T LT-10-SC-603 50 μl(50回)
T C G A 定価 7,500円

1 μl SpeedCut Alu I の切断反応					
Linear Substrate (λ DNA)		Plasmid DNA (pKF3)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	15	>80%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Arthrobacter luteus*
- 活性測定用基質 λ DNA

SpeedCut BamH I

G G A T C C LT-10-SC-605 500 μl(500回)
C C T A G G 定価 4,500円

1 μl SpeedCut BamH I の切断反応					
Linear Substrate (λ DNA)		Plasmid DNA (pUC19)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	5	>90%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
6 hr	<10%

- 起源 *Escherichia coli* carrying the plasmid encoding BamH I gene
- 活性測定用基質 λ DNA
- メチル化の影響 dam methylase, dcm methylaseとCG methylaseの影響を受けない。
- Star活性 高濃度グリセロール、Mn²⁺存在下、低イオン強度下、認識配列がゆるむことがある。

SpeedCut Afl II

C T T A A G LT-10-SC-602 100 μl(100回)
G A A T T C 定価 9,000円

1 μl SpeedCut Afl II の切断反応					
Linear Substrate (λ-Bgl II)		Plasmid DNA (φX174)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	5	>90%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Escherichia coli* carrying the plasmid encoding Afl II gene
- 活性測定用基質 λ-Bgl II

SpeedCut Apa I

G G G C C C LT-10-SC-604 200 μl(200回)
C C C G G G 定価 4,500円

1 μl SpeedCut Apa I の切断反応					
Linear Substrate (λ-BamH I)		Plasmid DNA (pAdeno-X)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	5	>80%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Acetobacter pasteurianus* sub. *pasteurianus*
- 活性測定用基質 λ-BamH I
- メチル化の影響 認識部位に続く塩基配列によってはdcm methylase, CG methylaseの影響を受けることがある。

SpeedCut Bgl II

A G A T C T LT-10-SC-606 100 μl(100回)
T C T A G A 定価 5,000円

1 μl SpeedCut Bgl II の切断反応					
Linear Substrate (λ DNA)		Plasmid DNA (pKF3)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	5	>70%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
1 hr	<10%

- 起源 *Bacillus globigii*
- 活性測定用基質 λ DNA
- メチル化の影響 dam methylaseの影響を受けない。

SpeedCut *Bln* I

C|C T A G G LT-10-SC-607 25 μ l (25回)
G G A T C|C 定価 6,000円

1 μ l SpeedCut <i>Bln</i> I の切断反応					
Linear Substrate (λ -EcoR I)		Plasmid DNA (pAdeno-X)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	10	100%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Brevibacterium linens*
- 活性測定用基質 λ -EcoR I

SpeedCut *Dpn* I

CH- G A T T C LT-10-SC-609 50 μ l (50回)
C T A A G CH- 定価 6,500円

1 μ l SpeedCut <i>Dpn</i> I の切断反応					
Linear Substrate (pBR322- <i>Pvu</i> II)		Plasmid DNA (pBR322)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	n.a	n.a

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Escherichia coli* carrying the plasmid encoding *Dpn* I gene
- 活性測定用基質 pBR322-*Pvu* II
- メチル化の影響 CG methylaseとdam methylaseの影響を受けない。Aがメチル化されたG^mATCを切断可能。Aがメチル化されていないGATCを切断できない。Aがhemi-methylatedされたGmATCは一部しか切断できない。

SpeedCut *EcoR* I

G|A A T T C LT-10-SC-611 500 μ l (500回)
C T T A A|G 定価 4,500円

1 μ l SpeedCut <i>EcoR</i> I の切断反応					
Linear Substrate (λ DNA)		Plasmid DNA (pUC19)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	15	100%	5	100%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
1 hr	<10%

- 起源 *Escherichia coli* RY13
- 活性測定用基質 λ DNA
- メチル化の影響 認識部位に続く塩基配列によっては、CG methylaseの影響を受ける。高濃度グリセロール、Mn²⁺、DMSO存在下、低イオン強度下では、認識配列がゆるむことがある。また、反応液中にapemine (0.2 mM程度)を添加することにより、酵素活性は20~30%減少するが、Star活性の出現を30~50%に抑制することが認められている。
- Star活性

SpeedCut *Hae* III

G G|C C LT-10-SC-613 200 μ l (200回)
C C|G G 定価 6,000円

1 μ l SpeedCut <i>Hae</i> III の切断反応					
Linear Substrate (λ DNA)		Plasmid DNA (pUC19)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	5	100%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Haemophilus aegyptius*
- 活性測定用基質 λ DNA
- メチル化の影響 CG methylaseの影響を受けない。
- Star活性 高濃度グリセロール存在下では、認識配列がゆるむことがある。

SpeedCut *Cla* I

A T|C G A T LT-10-SC-608 50 μ l (50回)
T A G C|T A 定価 6,000円

1 μ l SpeedCut <i>Cla</i> I の切断反応					
Linear Substrate (λ DNA)		Plasmid DNA (M13mp18)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	5	100%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Caryophanon latum* L
- 活性測定用基質 λ DNA
- メチル化の影響 CG methylaseの影響を受ける。認識部位に続く塩基配列によってはdam methylaseの影響を受けることがある。高濃度グリセロール、Mn²⁺存在下、または低イオン強度下では、認識配列がゆるむことがある。
- Star活性

SpeedCut *Dra* I

T T T|A A A LT-10-SC-610 200 μ l (200回)
A A A|T T T 定価 7,000円

1 μ l SpeedCut <i>Dra</i> I の切断反応					
Linear Substrate (λ DNA)		Plasmid DNA (pBR322)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	5	100%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Deinococcus radiophilus*
- 活性測定用基質 λ DNA

SpeedCut *EcoR* V

G A T|A T C LT-10-SC-612 200 μ l (200回)
C T A|T A G 定価 8,000円

1 μ l SpeedCut <i>EcoR</i> V の切断反応					
Linear Substrate (λ DNA)		Plasmid DNA (pBR322)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
10	100%	5	100%	5	100%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Escherichia coli*
- 活性測定用基質 λ DNA
- メチル化の影響 CG methylaseの影響を受けない。

SpeedCut *Hha* I

G C G|C LT-10-SC-614 100 μ l (100回)
C|G C G 定価 6,000円

1 μ l SpeedCut <i>Hha</i> I の切断反応					
Linear Substrate (λ DNA)		Plasmid DNA (pBR322)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	5	100%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Haemophilus haemolyticus*
- 活性測定用基質 λ DNA
- メチル化の影響 CG methylaseの影響を受ける。
- Star活性 高濃度グリセロール存在下では、認識配列がゆるむことがある。

SpeedCut *Hind* III

A|A G C T T LT-10-SC-615 500 μ l (500回)
T T C G A|A 定価 4,500円

1 μ l SpeedCut <i>Hind</i> III の切断反応					
Linear Substrate (λ DNA)		Plasmid DNA (pUC19)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	5	>90%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Escherichia coli* carrying the plasmid encoding *Hind* III gene
- 活性測定用基質 λ DNA
- Star活性 Mn²⁺存在下では認識配列がゆるむことがある。

SpeedCut *Hpa* I

G T T|A A C LT-10-SC-617 50 μ l (50回)
C A A|T T G 定価 9,500円

1 μ l SpeedCut <i>Hpa</i> I の切断反応					
Linear Substrate (λ DNA)		Plasmid DNA (pKF3)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	5	100%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
0.5 hr	<10%

- 起源 *Haemophilus parainfluenzae*
- 活性測定用基質 λ DNA
- Star活性 高濃度グリセロール存在下では認識配列がゆるむことがある。

SpeedCut *Mlu* I

A|C G C G T LT-10-SC-619 100 μ l (100回)
T G C G C|A 定価 10,000円

1 μ l SpeedCut <i>Mlu</i> I の切断反応					
Linear Substrate (λ DNA)		Plasmid DNA (pKF3)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	10	>80%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Micrococcus luteus*
- 活性測定用基質 λ DNA
- メチル化の影響 CG methylaseの影響を受ける。

SpeedCut *Nde* I

C A|T A T G LT-10-SC-621 200 μ l (200回)
G T A|T A C 定価 7,500円

1 μ l SpeedCut <i>Nde</i> I の切断反応					
Linear Substrate (λ DNA)		Plasmid DNA (pBR322)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	15	>90%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Neisseria denitrificans*
- 活性測定用基質 λ DNA
- Star活性 高濃度グリセロール存在下、高イオン強度下では、認識配列がゆるむことがある。

SpeedCut *Hinf* I

G|A N T C LT-10-SC-616 200 μ l (200回)
C T N A|G 定価 4,500円

1 μ l SpeedCut <i>Hinf</i> I の切断反応					
Linear Substrate (λ DNA)		Plasmid DNA (pUC19)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	5	100%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Haemophilus influenzae* Rf
- 活性測定用基質 λ DNA
- メチル化の影響 CG methylaseの影響を受けない。

SpeedCut *Kpn* I

G G T A C|C LT-10-SC-618 200 μ l (200回)
C C A T G G 定価 4,500円

1 μ l SpeedCut <i>Kpn</i> I の切断反応					
Linear Substrate (λ -BamH I)		Plasmid DNA (pUC19)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	10	>90%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Klebsiella pneumoniae*
- 活性測定用基質 λ -BamH I
- メチル化の影響 CG methylaseの影響を受けない。
- Star活性 酵素過剰の状態では長時間反応する場合、Star活性がやすくなる。

SpeedCut *Nco* I

C|C A T G G LT-10-SC-620 25 μ l (25回)
G G T A C|C 定価 6,000円

1 μ l SpeedCut <i>Nco</i> I の切断反応					
Linear Substrate (λ DNA)		Plasmid DNA (pKF3)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	5	>90%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Nocardia corallina*
- 活性測定用基質 λ DNA
- Star活性 高濃度グリセロール、Mn²⁺、DMSO存在下では認識配列がゆるむことがある。

SpeedCut *Nhe* I

G|C T A G C LT-10-SC-622 25 μ l (25回)
C G A T C|G 定価 5,500円

1 μ l SpeedCut <i>Nhe</i> I の切断反応					
Linear Substrate (λ -Hind III)		Plasmid DNA (pBR322-Mu)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	10	100%	5	>90%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Neisseria mucosa heidelbergensis*
- 活性測定用基質 λ -Hind III
- メチル化の影響 認識部位に続く塩基配列によっては、CG methylaseの影響を受けることがある。高濃度グリセロール存在下、アルカリpH、低イオン強度などの条件下では、認識配列がゆるむことがある。
- Star活性

SpeedCut Not I G C G G C C G C G LT-10-SC-623 25 μl(25回) 定価 6,500円

1 μl SpeedCut Not I の切断反応					
Linear Substrate (pASF2-Xba I)		Plasmid DNA (pASF2)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
10	100%	5	100%	10	>70%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Nocardia otitidis-caviarum*
- 活性測定用基質 pASF2-Xba I
- メチル化の影響 CG methylaseの影響を受ける。

SpeedCut Pvu I C G A T C G C LT-10-SC-625 25 μl(25回) 定価 5,000円

1 μl SpeedCut Pvu I の切断反応					
Linear Substrate (λ-BamH I)		Plasmid DNA (pBR322)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	15	100%	5	>70%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Proteus vulgaris*
- 活性測定用基質 λ-BamH I
- メチル化の影響 CG methylaseの影響を受けるが、dam methylaseの影響は受けない。

SpeedCut Sac I G A G C T C LT-10-SC-627 100 μl(100回) 定価 6,000円

1 μl SpeedCut Sac I の切断反応					
Linear Substrate (λ-EcoR I)		Plasmid DNA (pUC19)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	15	100%	30	>80%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Streptomyces achromogenes*
- 活性測定用基質 λ-EcoR I
- メチル化の影響 CG methylaseの影響を受けない。
- Star活性 高濃度グリセロール存在下では、認識配列がゆるむことがある。

SpeedCut Sma I C C C G G G LT-10-SC-629 100 μl(100回) 定価 6,000円

1 μl SpeedCut Sma I の切断反応					
Linear Substrate (λ-Hind III)		Plasmid DNA (pUC19)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	5	>90%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Serratia marcescens Sb*
- 活性測定用基質 λ-Hind III
- メチル化の影響 CG methylaseの影響を受ける。

SpeedCut Pst I C T G C A G LT-10-SC-624 500 μl(500回) 定価 4,500円

1 μl SpeedCut Pst I の切断反応					
Linear Substrate (λ DNA)		Plasmid DNA (pUC19)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	5	>90%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Escherichia coli* ED8654 carrying the plasmid encoding Pst I gene
- 活性測定用基質 λ DNA
- Star活性 高濃度グリセロール存在下では、認識配列がゆるむことがある。

SpeedCut Pvu II C A G C T G LT-10-SC-626 200 μl(200回) 定価 6,000円

1 μl SpeedCut Pvu II の切断反応					
Linear Substrate (λ DNA)		Plasmid DNA (pBR322)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	30	>90%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
1 hr	<10%

- 起源 *Proteus vulgaris*
- 活性測定用基質 λ DNA
- Star活性 高濃度グリセロール存在下では、認識配列がゆるむことがある。

SpeedCut Sac II C C G C G G LT-10-SC-628 50 μl(50回) 定価 5,000円

1 μl SpeedCut Sac II の切断反応					
Linear Substrate (pASF2-Xba I)		Plasmid DNA (pASF2)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
20	100%	15	100%	10	>80%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Streptomyces achromogenes*
- 活性測定用基質 pASF2-Xba I
- メチル化の影響 CG methylaseの影響を受ける。

SpeedCut SnaB I T A C G T A LT-10-SC-630 25 μl(25回) 定価 8,000円

1 μl SpeedCut SnaB I の切断反応					
Linear Substrate (λ-BamH I)		Plasmid DNA (M13mp18)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	30	>90%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Sphaerotilus natans*
- 活性測定用基質 λ-BamH I
- メチル化の影響 CG methylaseの影響を受ける。

SpeedCut Spe I A C T A G T LT-10-SC-631 25 μl(25回) 定価 5,500円

1 μl SpeedCut Spe I の切断反応					
Linear Substrate (pASF2-Xba I)		Plasmid DNA (pASF2)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	30	>90%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Sphaerotilus natans*
- 活性測定用基質 pASF2-Xba I
- Star活性 低イオン強度下では、認識配列がゆるむことがある。

SpeedCut Stu I A G G C C T LT-10-SC-633 100 μl(100回) 定価 10,000円

1 μl SpeedCut Stu I の切断反応					
Linear Substrate (λ DNA)		Plasmid DNA (pKF3)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	5	>70%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Streptomyces tubercidicus*
- 活性測定用基質 λ DNA
- メチル化の影響 認識部位に続く塩基配列によっては、dcm methylaseの影響を受けることがある。

SpeedCut Xho I C T C G A G LT-10-SC-635 500 μl(500回) 定価 8,500円

1 μl SpeedCut Xho I の切断反応					
Linear Substrate (λ-Hind III)		Plasmid DNA (pKF3)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	5	>90%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Xanthomonas holcicola*
- 活性測定用基質 λ-Hind III
- メチル化の影響 CG methylaseの影響を受ける。(CT⁵⁰CGAGを非常にゆっくり切断する。)
- Star活性 Mn²⁺存在下、高イオン強度下では認識配列がゆるむことがあります。

SpeedCut Sfi I G G C C N N N N G G C C LT-10-SC-637 100 μl(100回) 定価 8,000円

1 μl SpeedCut Sfi I の切断反応					
Linear Substrate (pADSL2-Eco81 I)		Plasmid DNA (pADSL2)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	20	100%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Streptomyces fibriatus*
- メチル化の影響 認識部位を含む塩基配列が以下の場合、dcm methylaseの影響を受けます。
G G C C W G G N N G G C C
G G C C N N N N G G C C W G G
また、認識配列に続く塩基配列によっては、CG methylaseの影響を受ける場合があります。
- Star活性 Mn²⁺存在下では認識配列がゆるむことがあります。

N:A or C or G or T
W:A or T

SpeedCut Sph I G C A T G C LT-10-SC-632 50 μl(50回) 定価 8,000円

1 μl SpeedCut Sph I の切断反応					
Linear Substrate (λ DNA)		Plasmid DNA (pUC19)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	10	100%	5	100%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Streptomyces phaeochromogenes*
- 活性測定用基質 λ DNA
- メチル化の影響 CG methylaseの影響を受けない。

SpeedCut Xba I T C T A G A LT-10-SC-634 500 μl(500回) 定価 17,500円

1 μl SpeedCut Xba I の切断反応					
Linear Substrate (Damλ-EcoR I)		Plasmid DNA (pUC19)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
5	100%	5	100%	5	100%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
16 hr	<10%

- 起源 *Xanthomonas badrii*
- 活性測定用基質 Damλ-EcoR I
- メチル化の影響 認識部位に続く塩基配列によっては、dcm methylaseの影響を受けることがある。
- Star活性 高濃度グリセロール存在下では、認識配列がゆるむことがある。

SpeedCut Sal I G T C G A C LT-10-SC-636 200 μl(200回) 定価 8,000円

1 μl SpeedCut Sal I の切断反応					
Linear Substrate (λ-Hind III)		Plasmid DNA (pUC19)		PCR Product	
切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率
20	100%	20	100%	10	100%

QC data	
Star活性が確認されない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)
4 hr	<10%

- 起源 *Escherichia coli* carrying the plasmid encoding Sal I gene
- 活性測定用基質 λ DNA
- メチル化の影響 CG methylaseの影響を受ける。
- Star活性 高濃度グリセロール存在下では認識配列がゆるむことがあります。



製品毎のデータシート・プロトコールは
LABTASスペシャルサイト
<https://labtas.com/>
からもダウンロードいただけます。




SpeedCut Enzyme データ

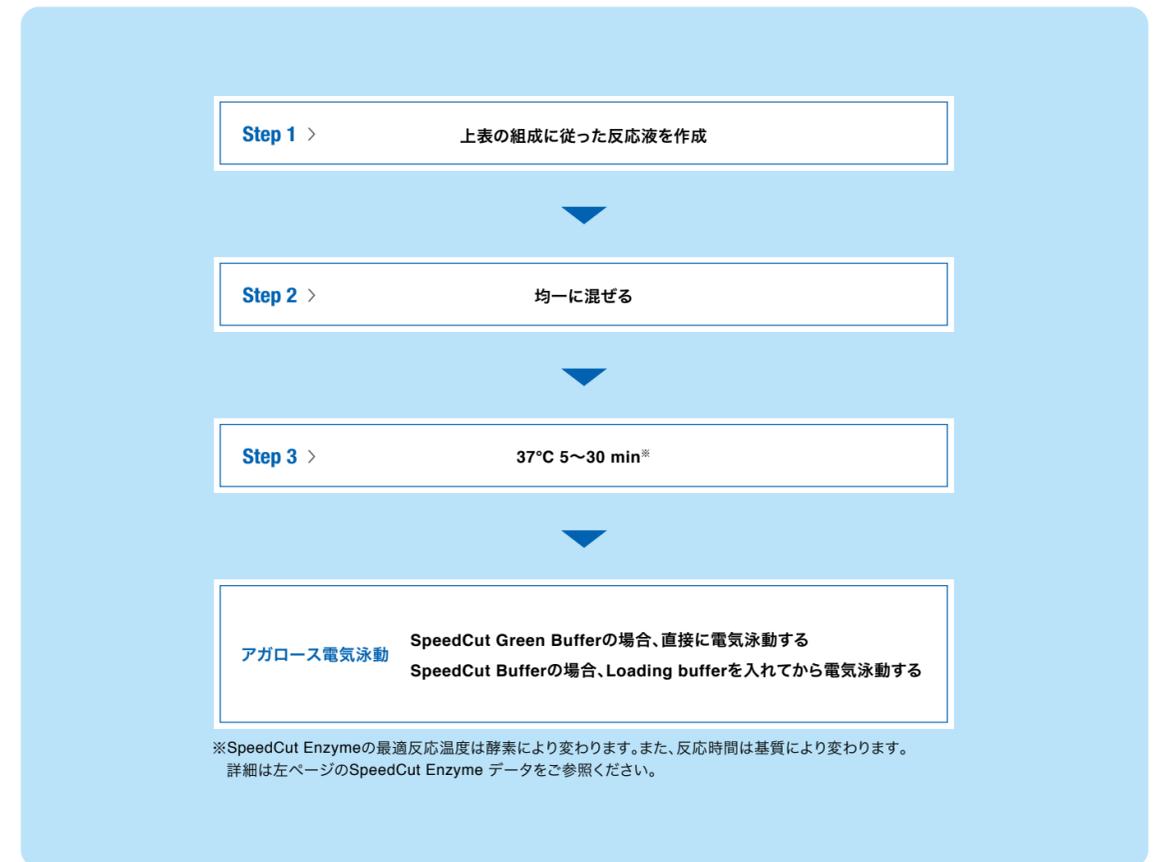
SpeedCut Restriction Enzyme	LABTAS コード	認識配列 5'→3'	反応温度 (°C)	1 µl SpeedCutの切断反応								QC data		定価
				Linear Substrate			Plasmid DNA			PCR Product		Star活性がみられない時間	Labeled Oligonucleotide Assay (LOA)	
				Linear Substrate	切断時間 (min)	切断効率	Plasmid DNA	切断時間 (min)	切断効率	切断時間 (min)	切断効率			
SpeedCut <i>Afa</i> I	LT-10-SC-601	GT ↓ AC	37	λ DNA	5	100%	pUC19	5	100%	5	100%	16 hr	<10%	6,500円
SpeedCut <i>Afl</i> II	LT-10-SC-602	C ↓ TTAAG	37	λ- <i>Bgl</i> II	5	100%	φX174	5	100%	5	>90%	16 hr	<10%	9,000円
SpeedCut <i>Alu</i> I	LT-10-SC-603	AG ↓ CT	37	λ DNA	5	100%	pKF3	5	100%	15	>80%	16 hr	<10%	7,500円
SpeedCut <i>Apa</i> I	LT-10-SC-604	GGGCC ↓ C	37	λ- <i>Bam</i> H I	5	100%	pAdeno-X	5	100%	5	>80%	16 hr	<10%	4,500円
SpeedCut <i>Bam</i> H I	LT-10-SC-605	G ↓ GATCC	30	λ DNA	5	100%	pUC19	5	100%	5	>90%	6 hr	<10%	4,500円
SpeedCut <i>Bgl</i> II	LT-10-SC-606	A ↓ GATCT	37	λ DNA	5	100%	pKF3	5	100%	5	>70%	1 hr	<10%	5,000円
SpeedCut <i>Bln</i> I	LT-10-SC-607	C ↓ CTAGG	37	λ- <i>Eco</i> R I	5	100%	pAdeno-X	5	100%	10	100%	16 hr	<10%	6,000円
SpeedCut <i>Cla</i> I	LT-10-SC-608	AT ↓ CGAT	30	λ DNA	5	100%	M13mp18	5	100%	5	100%	16 hr	<10%	6,000円
SpeedCut <i>Dpn</i> I	LT-10-SC-609	G ^{6m} A ↓ TC	37	pBR322- <i>Pvu</i> II	5	100%	pBR322	5	100%	n.a.	n.a.	16 hr	<10%	6,500円
SpeedCut <i>Dra</i> I	LT-10-SC-610	TTT ↓ AAA	37	λ DNA	5	100%	pBR322	5	100%	5	100%	16 hr	<10%	7,000円
SpeedCut <i>Eco</i> R I	LT-10-SC-611	G ↓ AATTC	37	λ DNA	5	100%	pUC19	15	100%	5	100%	1 hr	<10%	4,500円
SpeedCut <i>Eco</i> R V	LT-10-SC-612	GAT ↓ ATC	37	λ DNA	10	100%	pBR322	5	100%	5	100%	16 hr	<10%	8,000円
SpeedCut <i>Hae</i> III	LT-10-SC-613	GG ↓ CC	37	λ DNA	5	100%	pUC19	5	100%	5	100%	16 hr	<10%	6,000円
SpeedCut <i>Hha</i> I	LT-10-SC-614	GCG ↓ C	37	λ DNA	5	100%	pBR322	5	100%	5	100%	16 hr	<10%	6,000円
SpeedCut <i>Hind</i> III	LT-10-SC-615	A ↓ AGCTT	37	λ DNA	5	100%	pUC19	5	100%	5	>90%	16 hr	<10%	4,500円
SpeedCut <i>Hinf</i> I	LT-10-SC-616	G ↓ ANTC	37	λ DNA	5	100%	pUC19	5	100%	5	100%	16 hr	<10%	4,500円
SpeedCut <i>Hpa</i> I	LT-10-SC-617	GTT ↓ AAC	37	λ DNA	5	100%	pKF3	5	100%	5	100%	0.5 hr	<10%	9,500円
SpeedCut <i>Kpn</i> I	LT-10-SC-618	GGTAC ↓ C	37	λ- <i>Bam</i> H I	5	100%	pUC19	5	100%	5	>90%	16 hr	<10%	4,500円
SpeedCut <i>Mlu</i> I	LT-10-SC-619	A ↓ CGCGT	37	λ DNA	5	100%	pKF3	5	100%	10	>80%	16 hr	<10%	10,000円
SpeedCut <i>Nco</i> I	LT-10-SC-620	C ↓ CATGG	37	λ DNA	5	100%	pKF3	5	100%	10	>90%	16 hr	<10%	6,000円
SpeedCut <i>Nde</i> I	LT-10-SC-621	CA ↓ TATG	37	λ DNA	5	100%	pBR322	5	100%	15	>90%	16 hr	<10%	7,500円
SpeedCut <i>Nhe</i> I	LT-10-SC-622	G ↓ CTAGC	37	λ- <i>Hind</i> III	5	100%	pBR322-Mu	10	100%	5	>90%	16 hr	<10%	5,500円
SpeedCut <i>Not</i> I	LT-10-SC-623	GC ↓ GGCCGC	37	pASF2- <i>Xba</i> I	10	100%	pASF2	5	100%	10	>70%	16 hr	<10%	6,500円
SpeedCut <i>Pst</i> I	LT-10-SC-624	CTGCA ↓ G	37	λ DNA	5	100%	pUC19	5	100%	5	>90%	16 hr	<10%	4,500円
SpeedCut <i>Pvu</i> I	LT-10-SC-625	CGAT ↓ CG	37	λ- <i>Bam</i> H I	5	100%	pBR322	15	100%	5	>70%	16 hr	<10%	5,000円
SpeedCut <i>Pvu</i> II	LT-10-SC-626	CAG ↓ CTG	37	λ DNA	5	100%	pBR322	5	100%	30	>90%	1 hr	<10%	6,000円
SpeedCut <i>Sac</i> I	LT-10-SC-627	GAGCT ↓ C	37	λ- <i>Eco</i> R I	5	100%	pUC19	15	100%	30	>80%	16 hr	<10%	6,000円
SpeedCut <i>Sac</i> II	LT-10-SC-628	CCGC ↓ GG	37	pASF2- <i>Xba</i> I	20	100%	pASF2	15	100%	10	>80%	16 hr	<10%	5,000円
SpeedCut <i>Sma</i> I	LT-10-SC-629	CCC ↓ GGG	30	λ- <i>Hind</i> III	5	100%	pUC19	5	100%	5	>90%	16 hr	<10%	6,000円
SpeedCut <i>Sna</i> B I	LT-10-SC-630	TAC ↓ GTA	37	λ- <i>Bam</i> H I	5	100%	M13mp18	5	100%	30	>90%	16 hr	<10%	8,000円
SpeedCut <i>Spe</i> I	LT-10-SC-631	A ↓ CTAGT	37	pASF2- <i>Xba</i> I	5	100%	pASF2	5	100%	30	>90%	16 hr	<10%	5,500円
SpeedCut <i>Sph</i> I	LT-10-SC-632	GCATG ↓ C	37	λ DNA	5	100%	pUC19	10	100%	5	100%	16 hr	<10%	8,000円
SpeedCut <i>Stu</i> I	LT-10-SC-633	AGG ↓ CCT	37	λ DNA	5	100%	pKF3	5	100%	5	>70%	16 hr	<10%	10,000円
SpeedCut <i>Xba</i> I	LT-10-SC-634	T ↓ CTAGA	37	Dam ⁻ λ- <i>Eco</i> R I	5	100%	pUC19	5	100%	5	100%	16 hr	<10%	17,500円
SpeedCut <i>Xho</i> I	LT-10-SC-635	C ↓ TCGAG	37	λ- <i>Hind</i> III	5	100%	pKF3	5	100%	5	>90%	16 hr	<10%	8,500円
SpeedCut <i>Sa</i> I	LT-10-SC-636	G ↓ TCGAC	37	λ- <i>Hind</i> III	20	100%	pUC19	20	100%	10	100%	4 hr	<10%	8,000円
SpeedCut <i>Sfi</i> I	LT-10-SC-637	GGCCNNNN ↓ NGGCC	50	pADSL2- <i>Eco</i> 81 I	50	100%	pADSL2	5	100%	20	100%	16 hr	<10%	8,000円

操作方法

◆反応液の組成

	Linear Substrate	Plasmid DNA	PCR Product
10×SpeedCut Buffer or 10×SpeedCut Green Buffer	5 µl	5 µl	3 µl
DNA	≦1 µg	≦1 µg	≦0.2 µg
SpeedCut Enzyme	1 µl	1 µl	1 µl
滅菌水	Up to 50 µl	Up to 50 µl	Up to 30 µl

◆操作手順



◆使用時の注意事項

- 長時間の反応はStar活性が出やすくなるので避けることをお勧めします。
Star活性がみられるまでの時間は左ページのSpeedCut Enzyme データをご参照ください。
- 2種以上の複数の酵素で同時反応する場合、加える酵素の量は反応液量の1/10を超えないようご注意ください。もし、各酵素の反応温度が異なる場合は、低反応温度→高反応温度の順番で酵素を加えて反応をさせてください(低温反応の酵素反応の終了後、高温反応の酵素を入れて反応)。
- 10×SpeedCut Green Bufferは特定波長の光の吸収に影響を与えるため、吸光度測定などが必要な実験の場合は無色の10×SpeedCut Bufferをご使用ください。

メチル化の影響

"Y"メチル化の影響を受ける "N"メチル化の影響を受けない "H"認識配列後の配列の組み合わせに影響を受ける

制限酵素	認識配列	メチル化の影響をうけるかどうか		
		dam methylase	dcm methylase	CG methylase
SpeedCut <i>Afa</i> I	GT ↓ AC	N	N	H
SpeedCut <i>Afl</i> II	C ↓ TTAAG	N	N	N
SpeedCut <i>Alu</i> I	AG ↓ CT	N	N	N
SpeedCut <i>Apa</i> I	GGGCC ↓ C	N	H	H
SpeedCut <i>Bam</i> HI	G ↓ GATCC	N	N	N
SpeedCut <i>Bgl</i> II	A ↓ GATCT	N	N	N
SpeedCut <i>Bln</i> I	C ↓ CTAGG	N	N	N
SpeedCut <i>Cla</i> I	AT ↓ CGAT	H	N	Y
SpeedCut <i>Dpn</i> I	G ^{6m} A ↓ TC	N	N	N
SpeedCut <i>Dra</i> I	TTT ↓ AAA	N	N	N
SpeedCut <i>Eco</i> R I	G ↓ AATTC	N	N	H
SpeedCut <i>Eco</i> R V	GAT ↓ ATC	N	N	N
SpeedCut <i>Hae</i> III	GG ↓ CC	N	N	N
SpeedCut <i>Hha</i> I	GCG ↓ C	N	N	Y
SpeedCut <i>Hind</i> III	A ↓ AGCTT	N	N	N
SpeedCut <i>Hinf</i> I	G ↓ ANTC	N	N	N
SpeedCut <i>Hpa</i> I	GTT ↓ AAC	N	N	N
SpeedCut <i>Kpn</i> I	GGTAC ↓ C	N	N	N
SpeedCut <i>Mlu</i> I	A ↓ CGCGT	N	N	Y
SpeedCut <i>Nco</i> I	C ↓ CATGG	N	N	N
SpeedCut <i>Nde</i> I	CA ↓ TATG	N	N	N
SpeedCut <i>Nhe</i> I	G ↓ CTAGC	N	N	H
SpeedCut <i>Not</i> I	GC ↓ GGCCGC	N	N	Y
SpeedCut <i>Pst</i> I	CTGCA ↓ G	N	N	N
SpeedCut <i>Pvu</i> I	CGAT ↓ CG	N	N	Y
SpeedCut <i>Pvu</i> II	CAG ↓ CTG	N	N	N
SpeedCut <i>Sac</i> I	GAGCT ↓ C	N	N	N
SpeedCut <i>Sac</i> II	CCGC ↓ GG	N	N	Y
SpeedCut <i>Sma</i> I	CCC ↓ GGG	N	N	Y
SpeedCut <i>Sna</i> B I	TAC ↓ GTA	N	N	Y
SpeedCut <i>Spe</i> I	A ↓ CTAGT	N	N	N
SpeedCut <i>Sph</i> I	GCATG ↓ C	N	N	N
SpeedCut <i>Stu</i> I	AGG ↓ CCT	N	H	N
SpeedCut <i>Xba</i> I	T ↓ CTAGA	H	N	N
SpeedCut <i>Xho</i> I	C ↓ TCGAG	N	N	Y
SpeedCut <i>Sal</i> I	G ↓ TCGAC	N	N	Y
SpeedCut <i>Sfi</i> I	GGCCNNNN ↓ NGGCC	N	H	Y

Q & A

◆Q1:DNAが制限酵素で切断されていない。

A1: 制限酵素による切断反応がうまくいかない場合には、いくつかの可能性が考えられます。

1. DNA上に制限酵素の認識部位、切断部位がない。特に、組み換えDNA技術を使用した際には塩基の欠損や変化などが起こっている可能性があります。
2. 認識部位のA/Cがメチル化されている。一部の制限酵素は認識部位の塩基のメチル化に影響を受け、切断部位の切断ができなくなります。メチル化の影響について、「メチル化の影響」の表をご覧ください。
3. DNA溶液に阻害物質が含まれる。もしDNA溶液に制限酵素の阻害物質が含まれば、切断反応に影響を与えことがあります。この場合、DNAを再精製する必要があります。
4. DNA中の高次構造の影響により制限酵素による切断反応に影響がでる場合があります。
5. PCR産物の末端の場合制限酵素で切断されにくい場合があります。制限酵素の認識部位がプライマーの末端にある場合は認識部位の5'末端側に複数の塩基を追加してください。またプライマーの合成が不良の可能性もあります。
6. 異なるメーカーの制限酵素を混ぜて使用することはお勧めしません。
7. 酵素の保存条件などにより、酵素が失活している可能性があります。

◆Q2:制限酵素切断反応を行った後の電気泳動で、DNAのバンドが見えない、またはスメア状になる。

A2: DNAのバンドが見えない、またはスメア状になる場合には、いくつかの可能性が考えられます。

1. DNA溶液、制限酵素、BufferのどこかにDNaseが混入している可能性があります。異なる制限酵素を使って基質DNAを切断したり、別のDNAを切断するなどにより、どちらに問題あるかを検証します。
2. 過剰の制限酵素を加えることでStar活性がでる可能性があります。この場合、酵素の量を減らすことが有効です。
3. 長時間の反応によりDNAが過剰に分解されている。この場合、反応時間を短めにするのが有効です。

◆Q3:制限酵素の活性に対して、CG methylase、dam methylase、dcm methylaseはどのような影響を与えますか？

A3: 哺乳類生物由来のDNAにあるCG配列は、CG methylaseによりメチル化され、5^mCGになっていることが多く見られます。また、遺伝子組み換え実験によく使われる多くの大腸菌株（JM109、HB101など）はdam methylaseとdcm methylaseを持つため、これら宿主から抽出したプラスミドDNAでは、GATC、CCWGG配列中のAまたはCがメチル化され、それぞれG^{6m}ATC、C^{5m}CWGGになっています。一部の制限酵素は、認識配列中にメチル化された塩基があると切断ができなくなります。メチル化の影響を受ける制限酵素を使用する場合には、対象のDNA中の認識部位の周辺配列を確認しておく必要があります。

W:A or T

◆Q4:Star活性を引き起こす原因と抑制方法？

A4: Star活性を引き起こす原因には、いくつかの可能性が考えられます。

1. 高濃度のグリセロール (>5% v/v)
2. 過剰な酵素
3. Bufferの塩濃度、pHなど
4. 長時間の反応
5. 有機溶媒 (DMSO、エタノール、エチレングリコール、ジメチルアセトアミド、DMF等)の混入
6. Mgの代わりに他の2価イオンの使用 (Mn²⁺, Cu²⁺, Co²⁺, Zn²⁺など)。

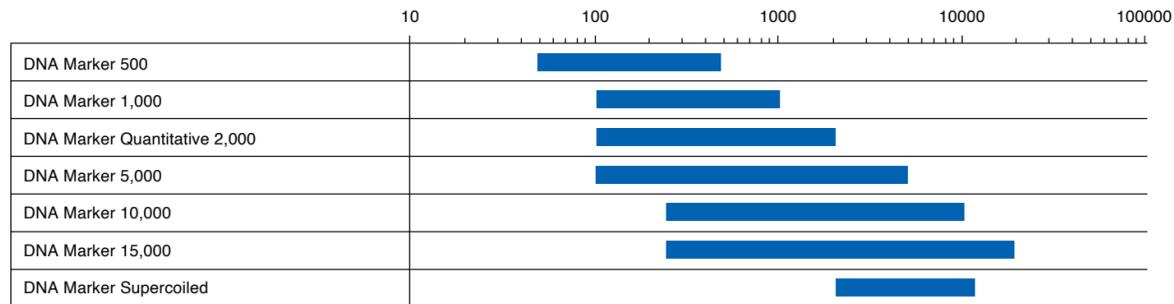
Star活性を抑制する方法:

1. 酵素の量を減らす。グリセロールの濃度も下がり、過剰反応を抑えることができます。
2. できるだけ有機溶媒を使用しない。
3. 反応時間をできるだけ短くする。
4. 2価イオンはMg²⁺を使う。他の2価イオンは制限酵素の正確性に影響を与えます。製品に添付されたBufferを使用すれば、通常Star活性は発生しません。

Memo



DNA Marker 分子量 早見表



DNA Marker シリーズ 一覧

製品名	LABTASコード	包装量	定価
DNA Marker 500/L	LT-10-DM-590L	500 µl	6,000円
DNA Marker 500/S	LT-10-DM-590S	200 µl	3,980円
DNA Marker 1,000/L	LT-10-DM-591L	500 µl	6,000円
DNA Marker 1,000/S	LT-10-DM-591S	200 µl	3,980円
DNA Marker Quantitative 2,000/L	LT-10-DM-580L	500 µl	6,000円
DNA Marker Quantitative 2,000/S	LT-10-DM-580S	200 µl	3,980円
DNA Marker 5,000/S	LT-10-DM-428S	200 µl	3,980円
DNA Marker 10,000/L	LT-10-DM-584L	500 µl	6,000円
DNA Marker 10,000/S	LT-10-DM-584S	200 µl	3,980円
DNA Marker 15,000/L	LT-10-DM-582L	500 µl	6,000円
DNA Marker 15,000/S	LT-10-DM-582S	200 µl	3,980円
DNA Marker Supercoiled	LT-10-DM-585L	300 µl	6,000円

◆製品説明

DNA Marker シリーズは1xLoading Bufferが含まれるDNAマーカーです。そのまま電気泳動が可能なので、とても便利です。各製品の具体的な説明は下記の表をご参照ください。

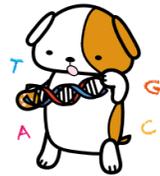
◆保存

-20°C 融解後4°C保存、凍結融解の繰り返しはしないように。

◆組成

DNA Marker シリーズ

10 mM	Tris-HCl, pH8.0
6 mM	EDTA
6%	Glycerol
0.0083%	Bromophenol Blue
0.0033%	Xylene Cyanol



製品名	濃度	範囲	バンド数	説明
DNA Marker 500	約450ng/5 µl	50bp ~ 500bp	7	500 bp, 400 bp, 300 bp, 200 bp, 150 bp, 100 bp, 50 bp 合計7本の二本鎖DNAからなり、200 bpは指示用に濃いバンドになる
DNA Marker 1,000	約450ng/5 µl	100bp ~ 1kb	7	1,000 bp, 700 bp, 500 bp, 400 bp, 300 bp, 200 bp, 100 bp 合計7本の二本鎖DNAからなり、400 bpは指示用に濃いバンドになる
DNA Marker Quantitative 2,000	約460ng/5 µl	100bp ~ 2kb	6	2,000 bp, 1,000 bp, 750 bp, 500 bp, 250 bp 及び 100 bp からなり、1回分5µlの電気泳動時に含まれる各バンドの量は、200 ng, 100 ng, 75 ng, 50 ng, 25 ng および10 ngである。
DNA Marker 5,000	約550ng/5 µl	100bp ~ 5kb	9	5,000 bp, 3,000 bp, 2,000 bp, 1,500 bp, 1,000 bp, 750 bp, 500 bp, 250 bp, 100 bp 合計9本の二本鎖DNAからなり、その中1,000 bpは指示用に濃いバンドになる
DNA Marker 10,000	約450ng/5 µl	250bp ~ 10kb	7	10,000 bp, 7,000 bp, 4,000 bp, 2,000 bp, 1,000 bp, 500 bp, 250 bp 合計7本の二本鎖DNAからなり、その中2,000 bpは指示用に濃いバンドになる
DNA Marker 15,000	約350ng/5 µl	250bp ~ 15kb	7	15,000 bp, 10,000 bp, 7,500 bp, 5,000 bp, 2,500 bp, 1,000 bp 及び 250 bp 合計7本の二本鎖DNAからなる
DNA Marker Supercoiled	約500ng/6 µl	2kb ~ 11 kb	8	8種類のスーパーコイルプラスミド DNA (11,849bp, 10,085bp, 8,023bp, 6,133bp, 5,026bp, 3,997bp, 3,049bp, 2,087bp) からなる

DNA Marker Quantitative 2,000

製品名	LABTASコード	包装量	定価
DNA Marker Quantitative 2,000/L	LT-10-DM-580L	500 µl	6,000円
DNA Marker Quantitative 2,000/S	LT-10-DM-580S	200 µl	3,980円

◆製品説明

DNA Marker Quantitative 2,000は異なる濃度のDNAフラグメントの相対的な定量に使えます。本製品は1xOrange G Loading Bufferに溶かしているDNA溶液で、1回分5 µlをそのまま電気泳動可能なので、とても便利です。Orange Gは、25bp DNAに近い位置に確認できます。(3% TAE 泳動時) DNA Marker Quantitative 2,000はDNAフラグメント2,000bp, 1,000bp, 750bp, 500bp, 250bp及び100bpからなり、1回分5 µlを使って電気泳動の場合:それぞれバンドのDNA量は200 ng, 100 ng, 75 ng, 50 ng, 25 ng と10 ngです。

◆濃度 ◆保存

約460ng/5 µl -20°C 融解後4°C保存、凍結融解の繰り返しはしないでください。

DNA Marker Supercoiled

製品名	LABTASコード	包装量	定価
DNA Marker Supercoiled	LT-10-DM-585L	300 µl	6,000円

◆製品説明

DNA Marker Supercoiledは8種類のスーパーコイルプラスミドDNA (11,849bp, 10,085bp, 8,023bp, 6,133bp, 5,026bp, 3,997bp, 3,049bp, 2,087bp) からなり、2kb~6kbの間は1kbの間隔、6kb~12kbの間は2kbの間隔です。1回分6 µlを使って電気泳動の場合:それぞれのバンドのDNA量は約50 ngですが、5kbのバンドはDNAの量がほかのバンドの約3倍 (150 ng) になり、濃く現れます。本DNA溶液は1xLoading Bufferに溶かしており、直接ゲルにアプライして電気泳動することが可能です。1xLoading Bufferに色素Xylene Cyanol FF (0.01%) とBromophenol Blue (0.01%) が入っています。

◆濃度 ◆保存

約500ng/6 µl -20°C

DNA Marker 電気泳動図

