

主要制限酵素 Double Digestion用推奨Universal Buffer

この表は、pUC系プラスミドのクローニングサイトに切断部位を持つ制限酵素を中心に、Double Digestionに使用する最適なUniversal Buffer条件を示しています。表中のUniversal Bufferの前に記している「数字×」は、各Bufferの最終濃度です。Universal Bufferはすべて10×濃度で供給していますので、0.5×は20倍、1×は10倍、2×は5倍に希釈して使用します。また、BSAも10×濃度(0.1%)なので、10倍希釈して最終濃度0.01%にして使用します。

	Acc I	Bam H I	Bgl II	Cla I	Eco R I	Eco R V	Hinc II	Hind III	Kpn I	Nco I	Nde I	Not I	Pst I	Pvu I	Sac I	Sal I	Sma I	Spe I	Sph I	Xba I	Xho I
Acc I	—	0.5×K	1×T	1×M	1×M	0.5×K	1×M	1×M	1×M	1×M +BSA	1×T	0.5×K +BSA	1×M	0.5×K	1×M	1.5×T	1×T +BSA	1×M	0.5×K	1×M	1×M
Bam H I	0.5×K	—	1×K	1×K	1×K	1×K	0.5×K	1×K	0.5×K	1×K +BSA	1×K	0.5×K +BSA	1×K	1×K	0.5×K	1.5×T	0.5×T +BSA	1×K	1×K	0.5×K	1×K
Bgl II	1×T	1×K	—	1×H	1×H	1×H	2×K	1×K	1×T	1×K +BSA	1×H	1×H +BSA	1×H	1×K	0.5×K	1×H	1×T +BSA	1×H	1×H	2×T	1×H
Cla I	1×M	1×K	1×H	—	1×H	1×H	1×M	1×M	1×M	1×K +BSA	1×H	1×H +BSA	1×H	1×K	1×M	1×H	1×T +BSA	1×M	1×H	1×M	1×H
Eco R I	1×M	1×K	1×H	1×H	—	1×H	1×M	1×M	1×M	1×K +BSA	1×H	1×H +BSA	1×H	1×K	1×M	1×H	1×T +BSA	1×H	1×H	1×M	1×H
Eco R V	0.5×K	1×K	1×H	1×H	1×H	—	2×T	1×K	0.5×K	1×K +BSA	1×H	1×H +BSA	1×H	1×K	0.5×K	1×H	0.5×K +BSA	1×H	1×H	2×T	1×H
Hinc II	1×M	0.5×K	2×K	1×M	1×M	2×T	—	1×M	1×M	1×M +BSA	1×T	0.5×K +BSA	1×M	0.5×K	1×M	1.5×K	1×T +BSA	1×M	2×T	1×M	1×M
Hind III	1×M	1×K	1×K	1×M	1×M	1×K	1×M	—	1×M	1×K +BSA	1×K	0.5×K +BSA	1×M	1×K	1×M	1.5×K	1×T +BSA	1×M	1×K	1×M	1×M
Kpn I	1×M	0.5×K	1×T	1×M	1×M	0.5×K	1×M	1×M	—	0.5×K +BSA	1×T	0.5×K +BSA	1×M	0.5×K	1×L	1.5×T +BSA	1×T +BSA	1×M	0.5×K	1×M	1×M
Nco I	1×M +BSA	1×K +BSA	1×K +BSA	1×K +BSA	1×K +BSA	1×K +BSA	1×M +BSA	1×K +BSA	0.5×K +BSA	—	1×K +BSA	0.5×K +BSA	1×K +BSA	1×K +BSA	0.5×K +BSA	1.5×T +BSA	1×T +BSA	1×K +BSA	1×K +BSA	1×M +BSA	1×K +BSA
Nde I	1×T	1×K	1×H	1×H	1×H	1×H	1×T	1×K	1×T	1×K +BSA	—	1×H +BSA	1×H	1×K	1×T	1×H	1×T +BSA	1×H	1×H	1×T	1×H
Not I	0.5×K +BSA	0.5×K +BSA	1×H +BSA	1×H +BSA	1×H +BSA	1×H +BSA	0.5×K +BSA	0.5×K +BSA	0.5×K +BSA	0.5×K +BSA	1×H +BSA	—	1×H +BSA	2×K +BSA	0.5×K +BSA	1×H +BSA	0.5×T +BSA	1×H +BSA	1×H +BSA	0.5×K +BSA	1×H +BSA
Pst I	1×M	1×K	1×H	1×H	1×H	1×H	1×M	1×M	1×M	1×K +BSA	1×H	1×H +BSA	—	1×K	1×M	1×H	0.5×T +BSA	1×H	1×H	1×M	1×H
Pvu I	0.5×K	1×K	1×K	1×K	1×K	1×K	0.5×K	1×K	0.5×K	1×K +BSA	1×K	2×K +BSA	1×K	—	0.5×K	1.5×K +BSA	1×K +BSA	1×K	1×K	0.5×K	1×K
Sac I	1×M	0.5×K	0.5×K	1×M	1×M	0.5×K	1×M	1×M	1×L	0.5×K +BSA	1×T	0.5×K +BSA	1×M	0.5×K	—	1.5×T +BSA	1×T +BSA	1×M	0.5×K	1×M	1×M
Sal I	1.5×T	1.5×T	1×H	1×H	1×H	1×H	1.5×K	1.5×K	1.5×T +BSA	1.5×T +BSA	1×H	1×H +BSA	1×H	1.5×K +BSA	1.5×T +BSA	—	1.5×T +BSA	1×H	1×H	1.5×T	1×H
Sma I	1×T +BSA	0.5×T +BSA	1×T +BSA	1×T +BSA	1×T +BSA	0.5×K +BSA	1×T +BSA	1×T +BSA	1×T +BSA	1×T +BSA	1×T +BSA	0.5×T +BSA	0.5×T +BSA	1×K +BSA	1×T +BSA	1.5×T +BSA	—	1×T +BSA	0.5×T +BSA	1×T +BSA	1×T +BSA
Spe I	1×M	1×K	1×H	1×M	1×H	1×H	1×M	1×M	1×M	1×K +BSA	1×H	1×H +BSA	1×H	1×K	1×M	1×H	1×T +BSA	—	1×H	1×M	1×H
Sph I	0.5×K	1×K	1×H	1×H	1×H	1×H	2×T	1×K	0.5×K	1×K +BSA	1×H	1×H +BSA	1×H	1×K	0.5×K	1×H	0.5×T +BSA	1×H	—	2×T	1×H
Xba I	1×M	0.5×K	2×T	1×M	1×M	2×T	1×M	1×M	1×M	1×M +BSA	1×T	0.5×K +BSA	1×M	0.5×K	1×M	1.5×T	1×T +BSA	1×M	2×T	—	1×M
Xho I	1×M	1×K	1×H	1×H	1×H	1×H	1×M	1×M	1×M	1×K +BSA	1×H	1×H +BSA	1×H	1×K	1×M	1×H	1×T +BSA	1×H	1×H	1×M	—

注1) 1 µg DNA / 50 µl 反応液に対し各酵素10 Uを添加して37°C、1時間反応させることで完全分解できることを確認している。

注2) 反応液中のグリセロール濃度は、Star活性をできるだけ抑えるために10%以下で使用する。

注3) DNAの種類や高次構造、認識切断部位が近接している場合などは、完全分解できない場合がある。