

Xmnl

REF: EG25517S



同裂酶: Pdml, MroXI

注: 同裂酶对于不同的甲基化修饰可能具有不同敏感性。



储存条件

-20°C保存 2 年

产品组成

组分	规格
Xmnl (10 U/μl)	50 μl
10× Cut Buffer C	1 ml

产品简介

Xmnl 属于 Type IIP 型限制酶, 来源于木薯萎蔫病黄单胞菌 (*Xanthomonas manihotis*), 经大肠杆菌重组表达后纯化获得。Xmnl 识别并切割 GAANN/NNTTTC 序列, 切割后形成平末端, 在 Cut Buffer C 中表现最佳的性能与星号活性控制。Xmnl 可兼容通用 CutOne® Buffer, 方便与其他内切酶联用实现快速双酶切, 但应避免长时间酶切, 以防止出现星号活性。

建议反应条件

1× Cut Buffer C;

37°C 温育;

参照“DNA 酶切流程”配制反应体系。

失活条件

80°C 温育 20 min。

活性定义

1 活性单位 (U) 是指在 50 μl 反应体系中, 37°C 1 h 内完全酶切 1 μg λDNA 所需的酶量。

质量控制

功能活性检测

37°C 下, 10 U Xmnl 能够在 15 min 内完全消化 1 μg λDNA。

超长时间温育检测

37°C 下, 将 10 U Xmnl 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

37°C 下, 使用 10 U Xmnl 消化底物, 回收酶切产物。在 22°C 下使用适量 T4 DNA Ligase (Fast) 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。

图标注释

37 最适反应温度为 37°C

CpG 对于被 CpG 甲基化的 DNA, 剪切可能受阻

EB 对于被 EcoBI 甲基化的 DNA, 剪切可能受阻

80 失活条件为 80°C 温育 20 min

使用方法

1. DNA 酶切流程

① 在冰上按如下建议的加样顺序配制反应体系:

ddH ₂ O	up to 50 μl
10× Cut Buffer C	5 μl
底物 DNA ^a	1 μg
Xmnl (10 U/μl)	1 μl
Total	50 μl

a. DNA 底物中应不含苯酚、氯仿、乙醇、EDTA、洗涤剂或高浓度盐, 否则将会影响 Xmnl 酶活性;

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 1~3 h;

④ 80°C 温育 20 min 即可使酶失活, 停止反应, 或者通过吸附柱或苯酚 / 氯仿纯化终止反应。

2. 注意事项

① Xmnl 使用 CutOne® Buffer 进行酶切时, 酶切反应时间建议不超过 1 h。

② 反应体系中加入的酶体积不应超过总体积的 10%, 避免酶中过多的甘油引起星号活性;

③ 限制性内切酶存储缓冲液中的添加剂 (例如甘油、盐) 与底物溶液中的污染物 (例如盐、EDTA 或乙醇等) 相同, 反应体积越小, 酶切反应抑制效应越强。

不同 DNA 中的酶切位点数量

λDNA	ΦX174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
24	3	2	1	1	0	2	5

甲基化修饰影响

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

在不同反应缓冲液中的活性

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

注: 活性数据来自百时美限制酶标准反应体系下的检测。