



Pcil

产品货号: F7514S

储存条件: -20°C



产品组成

组分	规格
Pcil (10U/ul)	20ul
10×Cut Buffer C	1ml

产品简介

Pcil 属于 Type IIP 型限制性内切酶，来源于柠檬色动性球菌(*Planococcus citreus*)，经大肠杆菌重组表达后获得。Pcil 使用专属反应缓冲液 Cut Buffer C，可实现快速酶切；可兼容LabFD 缓冲液进行双酶切，但长时间反应可能出现星号活性。。

建议反应条件: 1×Cut buffer C；37°C温育；参照“DNA 快速酶切流程”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 p615 所需的酶量。

质量控制

功能活性检测

37°C下，在 20ul 反应体系中，10U Pcil 能够在 15min 内完全消化 1ug p615。

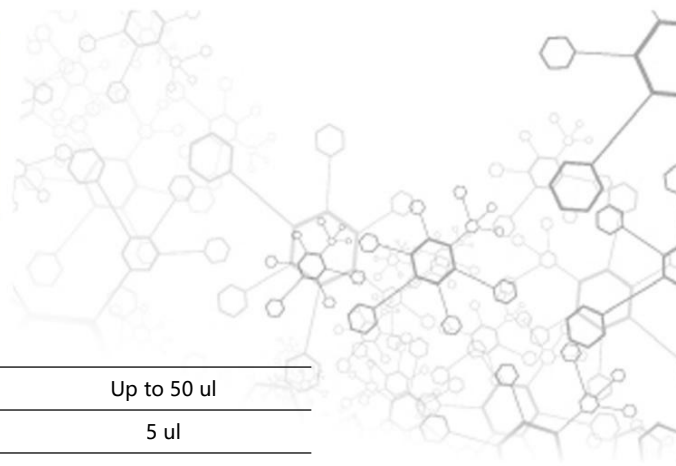
超长时间温育检测

37°C下，将 10U Pcil 与1ug p615 共同温育 3h，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 Pcil 消化 DNA 底物，回收酶切产物，在 22°C下使用 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。





使用方法

1. DNA 快速酶切流程

(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 ul
10×Cut Buffer C	5 ul
底物 DNA ^a	1 ug
PciI (10U/ul)	1 ul
Total	50 ul

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PciI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 15min~60min;

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

2. 注意事项

① 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;

② 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。

③ PciI 可以和其他 LabFD系列限制酶使用 LabFD缓冲液进行双酶切, 但不建议长时间(超过3 h)反应。

不同 DNA 中的酶切位点数量

λDNA	ΦX174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
2	0	1	1	1	0	3	9

甲基化修饰影响

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

在不同反应缓冲液中的活性

	LabFD™ Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB CutSmart® Buffer	Takara QuickCut™ Buffer
活性	50%	< 12.5%	50%	12.5%

注: 活性数据来自 LABLEAD 限制酶标准反应体系下的检测。

