

## BeyoFast™ PstI

| 产品编号        | 产品名称           | 包装    |
|-------------|----------------|-------|
| D5849-500μl | BeyoFast™ PstI | 500μl |

### 产品简介:

- 碧云天生产的BeyoFast™系列快速内切酶是一系列经过基因工程重组、能够在5-15分钟内仅使用一种缓冲液就能快速完成DNA酶切的高品质限制性内切酶。
- BeyoFast™系列快速内切酶适用于质粒DNA、PCR产物或基因组DNA等的快速酶切。
- BeyoFast™系列快速内切酶具有如下优点。(1) 5-15分钟内就能完成酶切；(2) 所有BeyoFast™系列内切酶共用一种酶切缓冲液CutEZ™ Buffer, 大大简化酶切反应体系, 方便进行双酶切或多酶切；(3) 针对不同酶在CutEZ™ Buffer中活性存在差异的问题, 调整了不同酶的浓度, 可以统一按照每20μl体系加入1μl酶量的用量进行酶切反应；(4) Alkaline Phosphatase、Antarctic Phosphatase、T4 DNA Ligase、T4 Polynucleotide Kinase、T4 PNK (3' phosphatase minus)等很多修饰酶等都100%兼容CutEZ™ Buffer (具体的兼容性表请参考<https://www.beyotime.com/product/D6018.htm>), 使‘酶切-连接’和‘酶切-修饰-连接’等反应体系可以兼容, 支持一管化反应；(5) 良好的酶活冗余度, 轻松应对底物过量或困难模板酶切。
- **酶活性检测:** 最适反应温度下, 在20μl反应体系中, 1μl BeyoFast™ PstI能够在15min内完全消化1μg含有单个PstI酶切位点的质粒。

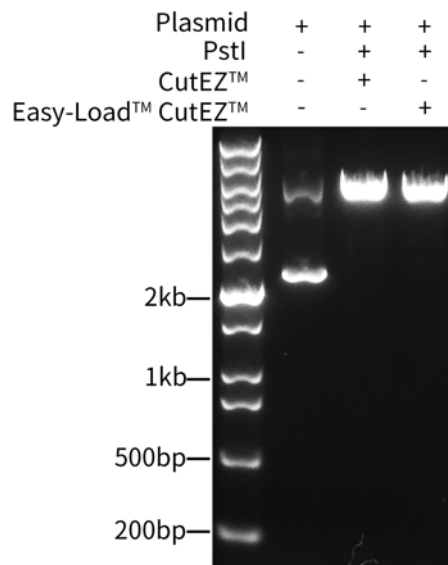


图1. 碧云天生产的BeyoFast™ PstI (D5849)酶活性实测效果图。20μl反应体系中包含1μg pCMV-Blank (D2602) (4294bp), 以及如图所示不添加或添加1μl BeyoFast™ PstI, 分别使用1X CutEZ™ Buffer和1X Easy-Load™ CutEZ™ Buffer, 37°C孵育15分钟进行酶切反应, 80°C孵育20分钟使酶失活, 然后电泳并使用NA-Red (EB升级换代产品, 2000X) (D0128/D0130)进行核酸染色, 再进行荧光成像分析。所使用的DNA marker为DNA Ladder (0.2-12 kb, 12 bands) (D0110)。实际检测效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中效果仅供参考。

- **长时间酶切检测:** 最适反应温度下, 将1μl BeyoFast™ PstI与1μg λDNA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:** 最适反应温度下, 使用1μl BeyoFast™ PstI消化底物, 回收酶切产物, 在22°C下使用适量T4 DNA Ligase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1μl BeyoFast™ PstI与1μg超螺旋质粒DNA共同温育4h, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 质粒DNA仍然处于超螺旋状态。
- **蓝白斑检测:** 将含有单一lacZa基因的载体以1μl BeyoFast™ PstI消化, 重新连接后转化入大肠杆菌感受态细胞, 涂布在含有对应抗生素、IPTG和X-gal的LB培养基平板上。连接正确的产物会生长出蓝色菌落, 而连接错误(即DNA末端切口不完整)的产物将得到白色菌落。对于BeyoFast™系列限制酶而言, 白色菌落比例应小于1%。
- BeyoFast™ PstI快速内切酶基本信息如下:

| 识别序列[1]  | 同裂酶    | 酶切温度 | 失活条件       | 甲基化干扰? |
|--|--------|------|------------|--------|
| 5'-CTGCA <sup>^</sup> G-3'<br>3'-G <sup>^</sup> ACGTC-5' | BspMAI | 37°C | 80°C 20min | 无干扰    |

➤ BeyoFast™ PstI快速内切酶在不同反应缓冲液中的活性(缓冲液兼容性)如下:

| Beyotime CutEZ™ Buffer | Beyotime Easy-Load™ CutEZ™ Buffer | Thermo FastDigest Buffer | NEB CutSmart® Buffer | Takara QuickCut™ Buffer |
|------------------------|-----------------------------------|--------------------------|----------------------|-------------------------|
| 100%                   | 100%                              | 100%                     | 100%                 | 100%                    |

注: 活性数据来自碧云天BeyoFast™系列快速内切酶的标准反应体系下的检测。

➤ BeyoFast™ PstI快速内切酶识别位点的甲基化影响请参考下表:

| Dam | Dcm | CpG | EcoKI | EcoBI |
|-----|-----|-----|-------|-------|
| 无影响 | 无影响 | 无影响 | 无影响   | 无影响   |

### 包装清单:

| 产品编号        | 产品名称                         | 包装    |
|-------------|------------------------------|-------|
| D5849-500μl | BeyoFast™ PstI               | 500μl |
| D6018-1ml   | 10X CutEZ™ Buffer            | 1ml   |
| D6020-1ml   | Easy-Load™ 10X CutEZ™ Buffer | 1ml   |
| —           | 说明书                          | 1份    |

### 保存条件:

-20°C保存, 两年有效。

### 注意事项:

- 内切酶使用时宜存放在冰盒内或冰浴上, 使用完毕后宜立即放置于-20°C保存。
- 不含核酸酶的超纯水推荐选购碧云天的BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile) (ST876)。
- 如果发现预期的酶切位点不能切开, 请确认是否存在甲基化干扰问题。
- 同裂酶对于不同的甲基化修饰可能具有不同敏感性, 遇到可能存在甲基化干扰问题时, 可以尝试同裂酶。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明:

1. 单酶切时可以参考如下反应体系, 在冰浴上进行操作。

| Reagent   | Plasmid DNA     | PCR Product  | Genomic DNA |
|---|-----------------|--------------|-------------|
| Ultrapure Water                                   | (17-x)μl        | (26-x)μl     | (40-x)μl    |
| 10X CutEZ™ Buffer or Easy-Load™ 10X CutEZ™ Buffer | 2μl             | 3μl          | 5μl         |
| Substrate DNA                                     | xμl (up to 1μg) | xμl (~0.2μg) | xμl (5μg)   |
| BeyoFast™ PstI                                    | 1μl             | 1μl          | 5μl         |
| Total volume                                      | 20μl            | 30μl         | 50μl        |
| Incubate at 37°C                                  | 15min           | 15-30min     | 30-60min    |

注: 上述反应体系适用于经过纯化的PCR产物酶切。未纯化的PCR产物有一定的离子强度和pH, 10X CutEZ™ Buffer加入量可适当减少至2μl。但由于很多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连接、克隆等操作, 建议酶切前对PCR产物进行纯化。

- 参考上表依次加入各种液体后, 用移液器轻柔吸打或轻弹管壁以混匀(切勿涡旋混合), 然后瞬时离心以沉降液体至管底。
  - 37°C温育15min (质粒), 或15-30min (PCR产物), 或30-60min (基因组DNA)。酶切反应时优先推荐使用水浴, 反应温度通常更加恒定一些。
  - 80°C温育20min即可使酶失活并停止反应(可选)。
2. 双或多酶切时可以在参考上表单酶切反应体系设置的基础上, 参考如下原则设置反应体系。
- 每种快速内切酶的用量为1μl, 并根据需要适当扩大反应体系。
  - 所有快速内切酶的总体积总和不得超过总反应体系的1/10。
  - 如果所用的几种快速内切酶的最适反应温度不同, 应先从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。

### 参考文献:

1. Walder RY, Walder JA, Donelson JE. J Biol Chem. 1984. 259(12):8015-26.

相关产品:

| 产品编号        | 产品名称                    | 包装    |
|-------------|-------------------------|-------|
| D5601-200µl | BeyoFast™ ApaLI         | 200µl |
| D5609-50µl  | BeyoFast™ AscI          | 50µl  |
| D5617-25µl  | BeyoFast™ AvrII         | 25µl  |
| D5625-500µl | BeyoFast™ BamHI         | 500µl |
| D5633-125µl | BeyoFast™ BclI          | 125µl |
| D5641-100µl | BeyoFast™ BglII         | 100µl |
| D5649-50µl  | BeyoFast™ BsaI          | 50µl  |
| D5653-20µl  | BeyoFast™ BspQI         | 20µl  |
| D5657-100µl | BeyoFast™ BstBI         | 100µl |
| D5665-100µl | BeyoFast™ BstEII        | 100µl |
| D5670-100µl | BeyoFast™ Cfr9I         | 100µl |
| D5673-50µl  | BeyoFast™ ClaI          | 50µl  |
| D5681-50µl  | BeyoFast™ DpnI          | 50µl  |
| D5689-50µl  | BeyoFast™ DpnII         | 50µl  |
| D5692-200µl | BeyoFast™ DraI          | 200µl |
| D5697-25µl  | BeyoFast™ EagI          | 25µl  |
| D5699-20µl  | BeyoFast™ EarI          | 20µl  |
| D5705-600µl | BeyoFast™ EcoRI         | 600µl |
| D5713-200µl | BeyoFast™ EcoRV         | 200µl |
| D5721-30µl  | BeyoFast™ Esp3I (BsmBI) | 30µl  |
| D5729-50µl  | BeyoFast™ FspI          | 50µl  |
| D5737-500µl | BeyoFast™ HindIII       | 500µl |
| D5745-500µl | BeyoFast™ HinfI         | 500µl |
| D5753-50µl  | BeyoFast™ HpaI          | 50µl  |
| D5761-30µl  | BeyoFast™ KasI          | 30µl  |
| D5769-200µl | BeyoFast™ KpnI          | 200µl |
| D5777-100µl | BeyoFast™ MluI          | 100µl |
| D5785-50µl  | BeyoFast™ MnlI          | 50µl  |
| D5789-200µl | BeyoFast™ MspI          | 200µl |
| D5793-30µl  | BeyoFast™ NcoI          | 30µl  |
| D5801-200µl | BeyoFast™ NdeI          | 200µl |
| D5809-30µl  | BeyoFast™ NheI          | 30µl  |
| D5817-50µl  | BeyoFast™ NotI          | 50µl  |
| D5825-50µl  | BeyoFast™ NruI          | 50µl  |
| D5833-25µl  | BeyoFast™ NsiI          | 25µl  |
| D5841-25µl  | BeyoFast™ PacI          | 25µl  |
| D5847-50µl  | BeyoFast™ PmeI          | 50µl  |
| D5849-500µl | BeyoFast™ PstI          | 500µl |
| D5857-200µl | BeyoFast™ PvuII         | 200µl |
| D5865-100µl | BeyoFast™ SacI          | 100µl |
| D5873-50µl  | BeyoFast™ SacII         | 50µl  |
| D5881-200µl | BeyoFast™ SalI          | 200µl |
| D5885-20µl  | BeyoFast™ SapI          | 20µl  |
| D5889-25µl  | BeyoFast™ SbfI          | 25µl  |
| D5893-100µl | BeyoFast™ ScaI          | 100µl |
| D5897-100µl | BeyoFast™ SfiI          | 100µl |
| D5905-100µl | BeyoFast™ SmaI          | 100µl |
| D5913-50µl  | BeyoFast™ SpeI          | 50µl  |
| D5921-50µl  | BeyoFast™ SphI          | 50µl  |
| D5929-60µl  | BeyoFast™ SspI          | 60µl  |

|             |                |       |
|-------------|----------------|-------|
| D5937-100μl | BeyoFast™ StuI | 100μl |
| D5945-200μl | BeyoFast™ TaqI | 200μl |
| D5953-500μl | BeyoFast™ XbaI | 500μl |
| D5958-50μl  | BeyoFast™ XcmI | 50μl  |
| D5961-500μl | BeyoFast™ XhoI | 500μl |
| D5966-100μl | BeyoFast™ XmaI | 100μl |

Version 2024.04.24