

使用 Universal Buffer 和 Basal Buffer 进行限制酶活性表示

Takara 公司为了方便限制酶的统一使用，采用了通用缓冲液（Universal Buffer）测定限制酶活性的体系（5 种通用缓冲液中，用 **■** 标注的酶，以此时的活性值作为 100%，并在其它通用缓冲液中的相对活性记载在下表中。有 **(+)** 标记的是易受 Star 活性影响的缓冲液，希望尽量使用 **■** 或 **(+)** 标注的缓冲液。每种限制酶都有其自身的缓冲液（Basal Buffer），其中 Acc III, Bal I, Bgl I, Bpu1102 I, Cfr10 I, Cml105 I, Eco5 I, Eco1102 I, Nru I, Pst I, Sac I, Sna B I, Ssp I, Tag I, Vpa111 B I (共 14 种) 由于没有十分合适的缓冲液，只能使用最基本的缓冲液（Basal Buffer）。各种限制酶的基本缓冲液组成不同，相互之间不能通用。各种限制酶在基本缓冲液中的相对活性也被列于下表，供参考。

附带：活性测定用 Buffer
推荐使用的 Buffer

限制酶在各种缓冲液中的相对活性

限制酶	相对活性 (%)					
	L	M	H	K	T+BSA	Basal ^a
Aar II	<20	<20	<20	<20	100	120
Acc I	20	100	<20	<20	160	80
Acc II	(260)	100	<20	20	200	160
Acc III	(<20)	(<20)	20	(80)	(<20)	100
Afa I	60	60	40	60	100	100
Afl II	20	40 ^b	<20	<20	140	120
Alu I	100	100	20	<20	40	200
Aor19H I	<20	20	<20	20	80	100
Aor5H I	80	100 ^b	<20	20	120	120
Apa I	100	<20	<20	<20	<20	120
ApaT I	100	20	<20	<20	120	120
Bal I	<10	<10	<10	<10	<10	100
BamH I	(40)	(60)	80	100	60	160
Ban II	(120)	100	80	(100)	100	100
BctT130 I	(<20)	(20)	80	100	(20)	100
Bcl I	<20	20	40	60	60	100
Bgl I	<20	<20	20	40	<20	100
Bgl II	<20	20	100 ^b	(100)	(60)	100
Bln I	<20	20	40	100	40	120
BmeT110 I	<20	<20	20	100	<20	140
BmgT120 I	<20	<20	100	40	<20	240
Bpu1102 I	<20	<20	<20	40	60	100
BspT104 I	100	60	<20	<20	100	120
BspT107 I	<20	20	80	100	20	100
BspT286 I	100	20	<20	<20	60	100
BspT407 I	20	60	20	20	100	100
BssH II	100	100	60	20	140	100
BsrP I	(<20)	(60)	100	(100)	(100)	100
BsrS I	<20	40	100	<20	<20	120
BsrT107 I	(<20)	60	100	100	40	100
Cri10 I	(<20)	(<20)	(<20)	40	(20)	100
Cla I	40	100	60	100	60	100
Cpo I	<20	<20	80	100	<20	100
Dde I	40	60	60	100	80	80
Dpn I	60	60	120	140	100	100
Dra I	100	100	60	100	80	80
Eae I	60	100	<20	<20	120	160
Eam105 I	(<20)	(40)	20	40	(40)	100
Eco065 I	(20)	(60)	60 ^b	40	40	100
Eco108 I	100	60	<20	<20	100	160
EcoR I	(10)	(100)	100	(120)	(80)	120
EcoR V	(<20)	(40)	100	(120)	(40)	100
EcoT14 I	(<20)	(40)	100	(120)	(60)	100
EcoT22 I	<20	20	100	(140)	(20)	120
Eco5 I	<20	<20	<20	<20	<20	100
Eco81 I	<20	100	<20	<20	<20	100
Fba I	(<20)	(<20)	(80)	100	(20)	100
Fok I	(20)	(60) ^b	<20	<20	(200)	100
Hae II	80	100	<20	30	(200)	120
Hae III	60	100	100	60	100	100
Hap II	100	60	<20	<20	100	80
Hha I	80	100	150	>300	150	80
Hinc II	20	100	20	40	>240	100
Hind III	(60)	100	<10	40	(100)	80
Hinf I	80	100	160	60	100	100
Hinf I	40	80 ^b	<20	20	60	160
Hpa I	<20	(40)	20	100	(80)	100
Kpn I	(100)	40	<20	<20	60	140
Mbo I	20	40	60	100	40	100
Mbo II	100	60	<20	<20	60	100
Mfi I	100	80	<20	<20	80	100
Mlu I	60	60	100	(100)	60	100
Msp I	40	40	<20	40	100	60
Mun I	(200)	100 ^b	<20	<20	160	100
Nae I	100	<20	<20	<20	100	120
Nco I	(40)	(60)	20	20 ^b	(60)	160
Nde I	<20	40	100	(100)	20	100
Nhe I	(120)	100	<20	<20	(160)	100
Not I	<20	20	100 ^b	<20	60	60
Nru I	0	<20	20	20	<20	100
Nsi I	40	20	<20	60	100	100
PmaC I	100	80	<20	<20	100	100
Pst I	20	40	<20	100	60	160
Pvu I	(20)	(40)	80 ^b	(40)	40	100
Pvu II	(80)	100	40	<20	(40)	100
RspRS II	80	100	100	100	100	100
Sac I	100	60	<20	<20	80	80
Sac II	40	20	<20	<20	100	40
Sai I	<20	<20	100	<20	<20	200
Sau3A I	(60)	80	100	<20	(80)	100
Sca I	(<20)	(<20)	100	(60)	(<20)	100
Sf I	(40)	100	<20	<20	100	100
Sma I	<20	<20	<20	<20	100	100
Sph I	(80)	100	80	100	(80)	100
Sph I	(20)	(40)	100	120	(20)	100
Sse8387 I	(120)	60 ^b	<20	<20	(60)	100
Ssp I	(<20)	(60)	40	(100)	(80)	100
Stu I	60	100	60	80	140	100
Taq I	20	80	20	60	80	100
Tth111 I	(20)	80	40	100	(80)	120
VarN I	<20	(20)	60	100	(60)	100
Vpa111 B I	<20	<20	60	(40)	<20	100
Xba I	<10	50 ^b	<10	<10	120	120
Xba I	<20	40	100	100	30	100
Xba I	<20	60	<20	20	100	160
Xba I	<20	60	<20	20	100	100

进行 Double Digestion 时推荐的 Universal Buffer

使用两种酶同时进行 DNA 切断反应的双酶切反应是节省实验操作时间的常用手段之一。Takara 采用 Universal Buffer 表示系统，并对每种酶表示了在各 Universal Buffer 中的相对活性。尽管如此，在进行 Double Digestion 时，有时还会难以找到合适的 Universal Buffer。本表以 pUC18 系列载体的多克隆位点处的各限制酶为基准，显示了 Double Digestion 可使用的最佳 Universal Buffer 条件。在本表中，各 Universal Buffer 之前表示的 [数字 ×] 表示各 Universal Buffer 在反应体系中的最终浓度。Takara 销售产品中添附的 Universal Buffer 全为 10 倍浓度的缓冲液。终浓度为 0.5 × 时反应体系中的缓冲液则稀释至 20 倍，1 × 时稀释至 10 倍，2 × 时稀释至 5 倍进行使用。

主要限制酶进行 Double Digestion (双酶切反应) 时推荐的 Universal Buffer 一览表

Acc I	BamH I	Bgl II	Cla I	EcoR I	EcoR V	Hinc II	Hind III	Kpn I	Nco I	Nde I	Not I	Pst I	Pvu I	Sac I	Sai I	Sma I	Spe I	Sph I	Xba I	Xho I
-	-	1×T	1×M	1×M	0.5×K	1×M	1×M	1×K	0.5×K+BSA	1×T	0.5×K+BSA	1×K	1×M	1.5×T	1×T+BSA	1×M	0.5×K	1×M	1×M	1×M
BamH I	0.5×K	-	1																	