

PmeI 快切酶

浓度：10 U/μL

#M10015	
包装规格：	250 U
	500 U
	2500 U

保存及运输条件

干冰或湿冰（冰袋）运输；-20℃ 保存，有效期为 24 个月（储存缓冲液含 50%甘油）。避免反复冻融。

活性单位定义

在 37℃ 条件下，于 50 μL 总反应体积中，1 小时内完全消化 1 μg λ DNA 所需的酶量定义为 1 个活性单位（U）。



警告：本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

产品组成

组分	#M10015 S0250 (250 U)	#M10015 M0500 (500 U)	#M10015 X2500 (2500 U)
PmeI (10 U/μL)	0.025 mL	0.05 mL	0.25 mL
10X REv4 Buffer	1 mL	1 mL	1 mL

识别位点

5'...G T T T ↓ A A A C...3'
3'...C A A A ↑ T T T G...5'

注：↓ 与 ↑ 示双链 DNA 的切割位置。

产品介绍

PmeI 快切酶为重组表达的 II 型限制性内切酶，识别 GTTT/AAAC (8 碱基) 并产生平末端片段。识别位点长、在常见载体中出现频率低，特别适合载体线性化与去磷酸化前的单点切割。对 dam、dcm 甲基化不敏感，37℃ 下 5~15 分钟完成酶切，在专用配套缓冲液中拥有 100% 活性。

产品优势

- 稀切点优势：8 碱基识别序列在多数载体上仅出现一次或零次，线性化更可控；
- 快速高效：37℃ 下 5~15 分钟内完成酶切；
- 平末端产物，适配平端连接与末端修饰；
- 在专用配套缓冲液中 100% 活性，支持同管双酶切。

产品应用

- 基因克隆与重组 DNA 构建；
- 表达载体构建；
- CRISPR/Cas9 基因编辑验证；
- DNA 指纹图谱；
- Golden Gate 组装。

建议反应条件

- 1X REv4 Buffer；
- 37℃ 温育 5~15 min；
- 65℃ 加热 20 min 可使酶完全失活。

操作步骤

1. 酶切反应体系配制（20 μL 体系）
在冰上按如下顺序配制反应体系：

组分	使用量
无核酸酶水	至 20 μL
10X REv4 Buffer	2 μL
底物 DNA	≤1 μg
PmeI 快切酶 (10 U/μL)	0.5~1 μL
总体积	20 μL

注：加酶量不宜超过反应总体积的 1/10，请根据底物类型与用量适当调整。

2. 混匀与酶切反应

- 1) 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；
- 2) 37℃ 温育 5~15 min（质粒 DNA）；
- 3) 或 15~30 min (PCR 产物)、30~60 min (基因组 DNA)；
- 4) 可根据底物情况延长温育时间，直至 DNA 完全消化。

3. 反应终止（可选）

- 1) 65℃ 加热 20 min，可使酶完全失活，停止反应；
- 2) 或加入 EDTA 至终浓度 10 mM 终止反应。
4. 产物检测

1) 酶切产物可直接进行琼脂糖凝胶电泳分析；

2) 如需上样缓冲液，可取适量产物与凝胶上样缓冲液混匀后上样。

5. 双酶切或多酶切（可选）

1) 每种内切酶的用量为 1 μ L，并根据需要适当扩大反应体系；

2) 所有内切酶的体积总和不得超过总反应体系的 1/10；

3) PmeI 在 1X REv4 Buffer 中具有 100%活性，可与多数内切酶同管反应；若所用的几种内切酶最适反应温度不同，应先在最适温度较低的酶反应温度下进行酶切，再加入最适温度较高的酶于其最适反应温度下继续反应。

注意事项

- 推荐 37°C 反应，加酶量不超过反应总体积的 1/10；
- 对 dam、dcm 甲基化不敏感，但部分 CpG 甲基化与位点重叠时会阻断酶切；
- 65°C 加热 20 分钟可灭活；
- 部分超螺旋质粒底物切割效率偏低，完全消化 1 μ g 质粒可能需要多于 1 U 的酶量；本酶在反应中非常稳定，延长温育并不能提高切割效率，建议通过补加酶量解

决。