

# Restriction Enzymes

Enzyme	Recognition Site	添付バッファー						Code No.	Size (U)
		L	M	H	A	B	S		
Acc I	GT <sup>*</sup> (A,C)(T,G)AC	50	75	<5	100 <sup>E7</sup>	<5	-	318-00012	80
Acc II (FnuD II)	CG <sup>*</sup> CG	(75)	100 <sup>E7</sup>	10	100	50	-	315-00022	70
Afl II	C <sup>*</sup> TTAAG	50	50	5	100 <sup>E7</sup>	25	-	312-02531	200
Age I	A <sup>*</sup> CCGGT	(75)	100 <sup>E7</sup>	10	75	25	-	313-02561	80
Alu I	AG <sup>*</sup> CT	100	100 <sup>E7</sup>	25	150	25	-	312-00032	400
Apa I	GGGCC <sup>*</sup> C	100 <sup>E7</sup>	10	<5	50	<5	-	311-00862	6,000
Ase I	AT <sup>*</sup> TAAT	(10)	(50)	100 <sup>E7</sup>	(25)	100	-	319-02541	300
Ava I	C <sup>*</sup> PyCGPuG	10	100 <sup>E7</sup>	10	25	50	-	319-00042	330
Ava II (Eco47 I)	G <sup>*</sup> (G/A)TCC	(75)	100 <sup>E7</sup>	5	(75)	50	-	316-00052	85
Axy I (Eco81 I)	CC <sup>*</sup> TNAGG	(100)	100 <sup>E7</sup>	50	(100)	50	-	314-01011	130
Bal I	TGG <sup>*</sup> CCA	25	10	<5	25	<5	100 <sup>aE7</sup>	310-00491	20
BamH I	G <sup>*</sup> GATCC	(75)	(100)	75	(75)	100 <sup>E7</sup>	-	315-00061	12,000
Bcl I	T <sup>*</sup> GATCA	(100)	(200)	100 <sup>50</sup>	(100)	200	-	318-02511	400
Bgl I	GCC(N) <sub>4</sub> <sup>*</sup> NGGC	(10)	(50)	100 <sup>E7</sup>	(10)	25	-	310-00072	1,000
Bgl II	A <sup>*</sup> GATCT	(10)	(75)	100 <sup>E7</sup>	(50)	(150)	-	319-00081	2,500
Bsm I	GAATGCN <sup>*</sup>	(25)	(75)	50	(75)	100 <sup>55</sup>	-	312-01291	80
Bsp 1286 I	G(A,G,T)GC(A,C,T) <sup>*</sup> C	75	50	10	100 <sup>E7</sup>	10	-	317-01023	400
BssH II	G <sup>*</sup> CGCGC	(50)	50	75	(50)	100 <sup>50</sup>	-	311-01222	200
BstE II (BstP I)	G <sup>*</sup> GTNACC	(25)	(100)	100 <sup>50</sup>	(75)	100	-	314-00092	1,300
Dra I (Aha III)	TTT <sup>*</sup> AAA	75	100 <sup>E7</sup>	10	50	75	-	318-00872	3,500
EcoO109 I (Dra II)	PuG <sup>*</sup> GNCCPy	(100)	100 <sup>E7</sup>	10	100	50	-	318-01151	1,000
EcoR I	G <sup>*</sup> AATTC	-	-	100 <sup>E7</sup>	-	(150)	-	314-00112	12,000
EcoR II	<sup>*</sup> CC(A,T)GG	<5	100 <sup>E7</sup>	75	75	100	-	317-00881	50
EcoR V	GAT <sup>*</sup> ATC	(10)	75	100 <sup>E7</sup>	25	150	-	317-00462	2,000
EcoT38 I (Ban II)	GPuGCPy <sup>*</sup> C	150	100 <sup>E7</sup>	5	150	75	-	314-01072	900
Fok I	GGATG(N) <sub>9</sub> <sup>*</sup>	(200)	100 <sup>E7</sup>	<5	(200)	100	-	319-00123	160
Fsp I	TGC <sup>*</sup> GCA	25	100	5	100 <sup>E7</sup>	50	-	315-02521	100
Hae II	PuGCGC <sup>*</sup> Py	100	100 <sup>E7</sup>	25	75	50	-	318-00132	70
Hae III	GG <sup>*</sup> CC	75	100 <sup>E7</sup>	100	100	100	-	317-00141	3,400
Hha I	GCG <sup>*</sup> C	(75)	75	25	(100)	100 <sup>E7</sup>	-	319-00162	1,300
Hinc II (Hind II)	GTPy <sup>*</sup> PuAC	50	100 <sup>E7</sup>	50	100	50	-	316-00172	500
Hind III	A <sup>*</sup> AGCTT	<5	75	10	(25)	100 <sup>E7</sup>	-	311-01163	12,000
Hinf I	G <sup>*</sup> ANTC	10	75	100 <sup>E7</sup>	50	150	-	310-00192	2,000
Hpa I	GTT <sup>*</sup> ACC	(25)	(75)	25	(50)	(100)	100 <sup>bE7</sup>	313-00202	200
Kpn I	GGTAC <sup>*</sup> C	100 <sup>E7</sup>	50	<5	100	<5	-	310-00212	5,000
Mlu I	A <sup>*</sup> CGCGT	10	25	100 <sup>E7</sup>	10	50	-	313-00241	1,000
Msp I (Hpa II)	C <sup>*</sup> CGG	100	100 <sup>E7</sup>	25	100	50	-	318-00252	1,400
Nar I	GG <sup>*</sup> CGCC	100 <sup>E7</sup>	5	<5	100	<5	-	311-00502	180
Nci I	CC <sup>*</sup> (G,C)GG	100 <sup>E7</sup>	50	<5	100	<5	-	312-01132	330
Nco I	C <sup>*</sup> CATGG	(75)	(100)	100 <sup>E7</sup>	(100)	(150)	-	310-00511	400
Nde I	CA <sup>*</sup> TATG	10	25	100 <sup>E7</sup>	25	100	-	319-01142	60
Nde II (Mbo I)	<sup>*</sup> GATC	5	5	25	5	5	100 <sup>cE7</sup>	317-01861	300
Nhe I	G <sup>*</sup> CTAGC	(150)	100 <sup>E7</sup>	5	(200)	10	-	314-00891	450
Not I**	GC <sup>*</sup> GGCCGC	5	25	50 <sup>E7</sup>	10	50	-	316-01451	400
Nru I	TCG <sup>*</sup> CGA	<5	5	75	5	25	100 <sup>dE7</sup>	315-00522	500
Nsi I (EcoT22 I)	ATGCA <sup>*</sup> T	75	100	100 <sup>E7</sup>	(75)	100	-	317-00901	1,500
Nsp V	TT <sup>*</sup> CGAA	100 <sup>E7</sup>	50	<5	150	<5	-	312-00912	300
Pst I	CTGCA <sup>*</sup> G	(200)	(150)	100 <sup>E7</sup>	(150)	50	-	312-01171	12,000
Pvu II	CAG <sup>*</sup> CTG	(50)	100 <sup>E7</sup>	5	(50)	5	-	311-00281	2,000
Rsa I	GT <sup>*</sup> AC	200	100 <sup>E7</sup>	5	200	50	-	318-00291	800
Sac I (Sst I)	GAGCT <sup>*</sup> C	100 <sup>E7</sup>	75	10	100	10	-	319-00302	1,500
Sac II (Sst II)	CCGC <sup>*</sup> GG	100 <sup>E7</sup>	50	5	100	5	-	319-00922	700
Sal I	G <sup>*</sup> TCGAC	<5	<5	100 <sup>E7</sup>	<5	5	-	318-00311	2,200
Sau3A I	<sup>*</sup> GATC	(100)	100 <sup>E7</sup>	25	150	50	-	313-00322	150
Sau96 I (Cfr13 I)	G <sup>*</sup> GNCC	75	100 <sup>E7</sup>	50	75	150	-	310-00332	300
Sca I	AGT <sup>*</sup> ACT	(5)	(25)	25	(5)	(100)	100 <sup>eE7</sup>	313-01081	1,000
ScrF I	CC <sup>*</sup> NGG	(75)	(100)	100 <sup>E7</sup>	(100)	(150)	-	318-00931	250
Sfi I	GGCC(N) <sub>4</sub> <sup>*</sup> NGGCC	25	100 <sup>50</sup>	5	75	5	-	319-01441	100
Sma I	CCC <sup>*</sup> GGG	75	10	<5	100 <sup>50</sup>	<5	-	314-00352	1,500
Spe I	A <sup>*</sup> CTAGT	(75)	100 <sup>E7</sup>	10	(75)	75	-	315-01541	200
Sph I	GCATG <sup>*</sup> C	(100)	(200)	100 <sup>E7</sup>	(100)	100	-	310-01091	300
Ssp I	AAT <sup>*</sup> ATT	<5	(75)	10	(50)	100 <sup>E7</sup>	-	313-01101	400
Stu I (Aat I)	AGG <sup>*</sup> CCT	100	100 <sup>E7</sup>	50	100	100	-	315-00365	350
Sty I (EcoT14 I)	C <sup>*</sup> (A,T)(A,T)GG	(10)	(75)	100 <sup>E7</sup>	25	(75)	-	315-00941	2,000
Taq I (TthHB8 I)	T <sup>*</sup> CGA	25	50	25	100 <sup>55</sup>	100	-	318-00372	410
Xba I	T <sup>*</sup> CTAGA	50	100 <sup>E7</sup>	25	150	25	-	317-00381	3,000
Xho I	C <sup>*</sup> TCGAG	10	50	100 <sup>E7</sup>	25	150	-	312-00392	5,000



立山黒部アルペンルート 立山連峰の眺め

### 活性単位の定義

1 unit は、反応混合液 50 μl 中、1 μg の λ DNA を、60 分間で完全に分解する酵素活性とします。

### 制限酵素反応バッファー別相対活性一覧表

ニッポンジーンでは、5 種類の制限酵素反応バッファー (L, M, H, A, B) の中の 1 種類 (添付バッファー) を用いて **至適温度** で制限酵素の活性を測定しています。この **酵素活性を 100%** とした場合の他の反応バッファーによる酵素活性を左表に示しました。

( ) はスター活性などの影響を受けやすい反応バッファーを示しています。

別添付バッファー (BSA または Triton X-100) が添付されている制限酵素では、反応バッファーに BSA または Triton X-100 を添加せずに反応を行いました。酵素反応条件どおり別添付バッファーを添加して反応を行った場合の相対活性は 100% です。

### 制限酵素の反応例

制限酵素 Not I (酵素反応条件: 1 × H + 0.01% Triton X-100, 37°C) を用いた場合

d.d. Water	38 μl
10 x H Buffer	5 μl
0.1% Triton X-100	5 μl
DNA	1 μl
Not I	1 μl
<b>Total</b>	<b>50 μl</b>

↓  
37°C 60 min.

### ダブルダイジェクションの例

制限酵素 Not I と Xho I (酵素反応条件: 1 × H, 37°C) を用いた場合

d.d. Water	42 μl
10 x H Buffer	5 μl
DNA	1 μl
Not I	1 μl
Xho I	1 μl
<b>Total</b>	<b>50 μl</b>

↓  
37°C 60 min.

同時に二種類の制限酵素処理を行う際には、両方の酵素にとって至適な条件の反応バッファーを選択します。なお、制限酵素 Not I には Triton X-100 が別添付されていますが、Triton X-100 が他の制限酵素反応に与える影響を確認していないため、ダブルダイジェクションの際には添加しないことをお勧めします。

酵素の組み合わせによってはダブルダイジェクションができない場合があります。その場合は別々に酵素反応を行ってください。

**(重要)** 基質に対して大過剰の酵素を使用するとスター活性が引き起こされる可能性があります。酵素の添加量は必ず全体の液量に対して 1/10 量を超えないように注意してください。

**10 × L Buffer**  
100 mmol/l Tris-HCl (pH 7.9)  
100 mmol/l MgCl<sub>2</sub>  
10 mmol/l DTT

**10 × M Buffer**  
500 mmol/l NaCl  
100 mmol/l Tris-HCl (pH 7.9)  
100 mmol/l MgCl<sub>2</sub>  
10 mmol/l DTT

**10 × H Buffer**  
1,000 mmol/l NaCl  
500 mmol/l Tris-HCl (pH 7.9)  
100 mmol/l MgCl<sub>2</sub>  
10 mmol/l DTT

**10 × A Buffer**  
500 mmol/l Potassium acetate  
200 mmol/l Tris-acetate (pH 7.9)  
100 mmol/l Magnesium acetate  
10 mmol/l DTT

**10 × B Buffer**  
1,000 mmol/l NaCl  
100 mmol/l Tris-HCl (pH 8.5)  
100 mmol/l MgCl<sub>2</sub>  
10 mmol/l DTT

**10 × S (専用) Buffer**  
各制限酵素 (a, b, c, d, e)  
の酵素反応条件の  
10 倍濃度

**HC** 高濃度品あり  
Nucleoside (A, G, C, T)  
Pyrimidine (C, T) Purine (A, G)  
\* 1 mg/ml BSA が別添付  
\*\* 0.1% Triton X-100 が別添付