

Template Eliminator

REF: EG21203S

储运条件

-20℃

产品组成

组分	规格
Template Eliminator	50 μl

产品简介

Template Eliminator 是在 DpnI 与 SgeI 基础上开发得到的具有更好的质粒消化效果的一款酶。该酶通过按一定比例将 DpnI 与 SgeI 混合得到。由于 DpnI 切割 Dam⁺ 的底物，SgeI 切割 Dcm⁺ 的底物，二者混合以后可以相互弥补，从而提高对质粒的消化效率。

DpnI 需要在识别序列中存在 N6- 甲基腺嘌呤，才能切割 DNA。从 Dam⁺ 菌株纯化的 DNA 将是 DpnI 的底物。DpnI 只能切割完全腺甲基化 Dam 位点。半腺甲基化 Dam 位点的 DpnI 切割速度慢 60 倍。SgeI 可切割在单链或双链 DNA 上含有 5- 甲基胞嘧啶的 DNA 靶标。通过 Dcm 或 CpG 甲基转移酶甲基化的 DNA 将成为 SgeI 的底物。为实现有效切割，至少需要复制两个 SgeI 识别序列。甲基化 DNA 完全酶切所需的酶量取决于 SgeI 识别位点的数量。因此，将 DpnI 与 SgeI 通过一定比例混合，可以覆盖更多的使用场景，兼顾更多的宿主类型，提高点突变的灵活性。

经验证，本产品对于不同类型的模板，质粒残留率仅为 DpnI 的 10~20%，仅为 SgeI 的 0.1~1%。同时该酶可以适应常规 PCR 反应 Buffer，从而可以在扩增完成后直接进行消化。

质量控制

功能检测

用 1 μl Template Eliminator 消化 pUC19 点突变产物，蓝白斑筛选显示消化后背景斑比例 <2%。

内切酶残留检测

将 1 μl Template Eliminator 与 质粒底物（Dam-，Dcm-）在 37℃温育 4 h，通过 DNA 电泳检测质粒底物无变化。

非特异性 DNase 残留检测

将 1 μl Template Eliminator 与双链 DNA 底物在 37℃温育 1 h，通过 DNA 电泳检测双链 DNA 底物无变化。

使用方法

1. 于冰上配制如下反应体系：

试剂	使用量
PCR 产物 ^b	X ^a μl
Template Eliminator	1 μl
Nuclease-Free Water	To 20 μl

a. PCR 产物用量可根据扩增产物量灵活选择，产物多则减少用量，产物少则增加用量。

b. 对于常规 PCR Buffer，本产品可以良好适应，对于一些盐离子浓度高的 PCR Buffer，建议在反应时减少 PCR 产物用量，一般不超过反应体积的 1/2。

2. 涡旋混匀，瞬离；

3. 37℃温育 15 min；

4. 反应结束后，可以直接用于转化，或者 -20℃保存备用。