

Appendix

# TOYOBO販売制限酵素における基質DNAのメチル化の影響

大腸菌に含まれる *dam* Methylase (GATCの塩基配列中のアデニンのN<sup>6</sup>をメチル化) や *dcm* Methylase (CCAGGまたはCCTGGの塩基配列中の2番目のシトシンのC<sup>5</sup>をメチル化)、制限酵素認識部位MethylaseなどのMethylaseにより制限酵素の認識部位にメチル化された塩基を含んでいる場合、切断が阻害される場合があります。メチル化により切断阻害を受ける酵素と塩基配列を以下に示します。

酵素名	切断される塩基配列	影響を及ぼすMethylase	切断阻害を受ける塩基配列	酵素名	切断される塩基配列	影響を及ぼすMethylase	切断阻害を受ける塩基配列		
Alu I	AGCT	M.Pst I	CTGCAGCT	EcoRV	GATATC	M.Taq I	TCGATATC		
		M.Taq I	TCGAGCT			M.Ban III	ATCGATATC		
		M.Mbo II	GAAGAGCT			M.EcoRV	GATATC		
		M.Dde I	AGCTNAG			M.Mbo II	GAAGATATC		
		M.Alu I	AGCT			Hae III	GGCC	M.Apa I	GGGCC
M.Pvu II(4m)	CAGCTG	M.Xma III	CGGCCG						
BamH I	GGATCC	M.Sau3A I	GGATCC	M.Eae I	YGGCCR				
		M.Msp I	GGATCCGG	M.Bal I	TGGCCA				
		M.BamH I(4m)	GGATCC	M.Msp I	GGCCGG				
Bcl I	TGATCA	Dam	TGATCA	Hinc II	GTYRAC	M.Cfr10 I	GGCCGGY		
						Bgl I	GCCN <sub>4</sub> NGGC	M.Apa I	GCCN <sub>4</sub> GGGCC
M.Xma I	GCCN <sub>4</sub> CGGCCG	M.Hae III	GGCC						
M.Eae I	GCCN <sub>4</sub> YGGCCR	Hinc II	M.Taq I					GTGAC	
M.Bal I	GCCN <sub>4</sub> TGGCCA							M.Hinc II	GTYRAC
M.Hha I	GCCN <sub>5</sub> GGCGC			M.Hpa I	GTTAAC				
M.Msp I	GCCN <sub>5</sub> GGCCGG	M.Hha II	GTGACTC						
M.Cfr10 I	GCCN <sub>5</sub> GGCCGGY	Hind III	AAGCTT	M.Hind III	AAGCTT				
M.Cfr13 I	GCCN <sub>4</sub> GGGCC			M.Taq I	TCGAAGCTT				
M.Dde I	GCCN <sub>5</sub> GGCTNAG			M.Mbo II	GAAGAAGCTT				
Bgl II	AGATCT	M.Sau3A I	AGATCT	Hinf I	GANTC	M.Dde I	AAGCTT		
		M.Dde I	AGATCTNAG			M.Alu I	AAGCTT		
Dde I	CTNAG	M.Sau3A I	GATCTNAG			Msc I	TGGCCA	M.Taq I	TCGANTC
		M.Dde I	CTNAG					M.Ban III	ATCGATTC
		M.Alu I	AGCTNAG					M.Hinc II	GTGACTC
Dpn I	CH <sub>3</sub> ↓ GATC	M.Sau3A I	GATC	M.Hha II	GANTC			M.Mbo II	GAAGANTC
		M.Msp I	GATCCGG					Dcm	TGGCAGG
		M.Dde I	GATCTNAG			M.Bal I	TGGCCA		
		M.BamH I(4m)	GGATCC	M.Eae I	M.Hae III				
		M.Pvu I(4m)	CGATCG	Nhe I	GCTAGC	M.Hha I	GCTAGCGC		
EcoR I	GAATTC	M.EcoR I	GAATTC			M.Msp I	GCTAGCCGG		
		M.Mbo II	GAAGAATTC	M.Chr10 I	GCTAGCCGGY				
		M.Dde I	GAATTCNAG	M.Dde I	GCTAGCTNAG				
		M.Msp I	GAATTC CGG	M.Alu I	GCTAGCT				

酵素名	切断される塩基配列	影響を及ぼす Methylase	切断阻害を受ける塩基配列	酵素名	切断される塩基配列	影響を及ぼす Methylase	切断阻害を受ける塩基配列
<i>Not</i> I	GCGGCCGC	M.Xma III M.Eae I M.Hae III	GCGGCCGC	<i>Spe</i> I	ACTAGT	M.Taq I M.Hinc II M.Hpa I M.Mbo II	TCGACTAGT
<i>Pst</i> I	CTGCAG	M.Pst I M.Sau3A I M.Alu I	CTGCAG GATCTGCAG AGCTGCAG				GTyrACTAGT GTTA <sup>m</sup> ACTAGT GAAGACTAGT
<i>Pvu</i> I	CGATCG	M.Sau3A I M.Pvu I(4m)	CGATCG CGATCG	<i>Xho</i> I	CTCGAG	M.Taq I M.Hha II M.Sau3A I M.Alu I	CTCGAG
<i>Pvu</i> II	CAGCTG	M.Dde I M.Alu I M.Pvu II(4m)	CAGCTGAG CAGCTG CAGCTG				CTCGAGTC GATCTCGAG AGCTCGAG
<i>Sac</i> I	GAGCTC	M.Dde I M.Alu I	GAGCTCAG GAGCTC				
<i>Sac</i> II	CCGCGG	M.Sau3A I M.Xma I M.Eae I M.Cfr 13 I M.Hae III	GATCCGCGG CGGCCGCGG YGGCCGCGG GGNCCGCGG GGCCGCGG				
<i>Sal</i> I	GTCGAC	M.Taq I M.Hinc II M.Hha II	GTCGAC GTCGACTC				
<i>Sfi</i> I	GGCCNNNNGGCC	Dcm CG Methylase	GGCCWGGNNGGCC GGCCGNNCNGGCC				
<i>Sma</i> I	CCCGGG	M.Sau3A I M.Apa I M.Hpa II M.Sma I M.Cfr 13 I M.Hae III M.BamH I(4m) M.Bcn I(4m)	GATCCCGGG GGGCCCGGG CCCGGG GGNCCCGGG GGCCCGGG GGATCCCGGG CCCGGG				

参考文献

- 1 : C. Kessler et al., *Gene*, **33**: 1 – 102 (1985)
- 2 : M. Nelson et al., *Nucl. Acids Res.*, **12**: 5165 – 5173 (1984)

※Methylaseの後の(4m)は、メチル化された塩基がC-4-Methylcytosineであることを示します。

※Single Letter Code

R=A/G Y=C/T M=A/C K=G/T  
S=C/G W=A/T H=A/C/T B=C/G/T  
V=A/C/G D=A/G/T N=A/C/G/T