

BbvCI

产品编号	产品名称	包装规格
NBS8218	BbvCI	50 U

产品简介:

BbvCI 来源于短芽孢杆菌(*Bacillus brevis*) (L. Ge)的 BbvCI 基因, 经大肠杆菌重组表达获得。BbvCI 属于 Type IIA 类限制酶, 以异源二聚体形式存在, 由两个不同的催化亚基构成, 每个亚基具有独立的切割位点。BbvCI 识别并切割非回文序列 CCTCAGC(-5/-2), 形成 5'端 3 碱基突出的粘性末端。BbvCI 使用 FastCut 反应缓冲液, 可与其他 FastCut 系列限制酶进行双酶切, 但不建议长时间酶切 (超过 3 h), 以避免产生星号活性。

识别位点:

CCTCAGC

5'...C C↓T C A G C...3'

3'...G G A G T↑C G ...5'

产品组成:

组分	规格
BbvCI (2 U/μl)	25μl
10× FastCut Buffer	1 ml
10× FastCut Color Buffer	1 ml

保存条件:

-20℃保存, 2 年有效。

建议反应条件:

1× FastCut Buffer;

37℃温育;

参照“DNA 酶切流程”配制反应体系。

失活条件：

80°C 温育 20 min。

甲基化敏感性：

对于被 CpG 甲基化的 DNA，剪切可能受阻。

活性定义：

1 活性单位 (U) 是指在激活剂存在下，50 µl 反应体系中，37°C 1 h 内完全酶切 1 µg λDNA 所需的酶量。

功能活性检测：

37°C 下，2 U BbvCI 能够在 15 min 内完全消化 1 µg λDNA。

超长时间温育检测：

37°C 下，将 2 U BbvCI 与 1 µg λDNA 共同温育 3 h，未检测到其他核酸酶污染或星号活性引起的底物非特异性降解。延时酶切可能出现星号活性。

酶切-连接-再酶切检测：

37°C 下，使用 2 U BbvCI 消化底物，回收酶切产物。在 22°C 下使用适量 T4 DNA Ligase (Fast) 可以将 < 10% 的酶切产物重新连接。将连接产物再次回收后，使用相同的内切酶可以重新切开 95% 以上连接产物。

使用方法：**1. DNA 酶切流程**

① 在冰上按如下建议的加样顺序配制反应体系：

ddH ₂ O	up to 50µl
10× FastCut Buffer 或 10× FastCut Color Buffer	5µl
底物 DNA ^a	1µg
BbvCI (2 U/µl)	1µl

Total

50μl

a. DNA 底物中应不含苯酚、氯仿、乙醇、EDTA、洗涤剂或高浓度盐，否则将会影响 BbvCI 酶活性；

② 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；

③ 37°C 温育 1~3 h；

④ 80°C 温育 20 min 即可使酶失活，停止反应，或者通过吸附柱或苯酚/氯仿纯化终止反应。

不同 DNA 中的酶切位点数量

λDNA	ΦX174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
7	3	0	0	0	0	2	9

甲基化修饰影响

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
无影响	无影响	剪切受影响	无影响	无影响

在不同反应缓冲液中的活性

	FastCut	Thermo Scientific	NEB	Takara
	Buffer	FastDigest Buffer	rCutSmart™ Buffer	QuickCut™ Buffer
活性	100%	100%	100%	100%

注：活性数据来自限制酶标准反应体系下的检测。

注意事项：

1. 反应体系中加入的酶体积不应超过总体积的 10%，避免酶中过多的甘油引起星号活性；
2. 限制性内切酶存储缓冲液中的添加剂（例如甘油、盐）与底物溶液中的污染物（例如盐、EDTA 或乙醇等）相同，反应体积越小，酶切反应抑制效应越强；
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其它用途！

相关常规限制性内切酶产品：

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NBS8216</u>	<u>AarI</u>	100 U
<u>NBS8217</u>	<u>ApeKI</u>	500 U
<u>NBS8218</u>	<u>BbvCI</u>	50 U
<u>NBS8219</u>	<u>BpiI</u>	250 U
<u>NBS8220</u>	<u>BsiWI</u>	300 U
<u>NBS8221</u>	<u>BsmBI</u>	200 U
<u>NBS8222</u>	<u>BspQI</u>	500 U
<u>NBS8223</u>	<u>BsrDI</u>	250 U
<u>NBS8224</u>	<u>BstXI</u>	500 U
<u>NBS8225</u>	<u>PciI</u>	200 U
<u>NBS8226</u>	<u>SgeI</u>	250 U
<u>NBS8227</u>	<u>SgrAI</u>	500 U
<u>NBS8228</u>	<u>SspDI (KasI)</u>	250 U
<u>NBS8229</u>	<u>Swal</u>	1000 U
<u>NBS8230</u>	<u>XmnI</u>	500 U