

Nt.BbvCI

产品编号	产品名称	包装规格
NBS8235	Nt.BbvCI	150 U(5U/μl)

产品简介:

Nt.BbvCI 是一种切刻内切酶, 仅切割 dsDNA 底物的一条链; 在 dsDNA 底物上产生切口, 而不切开 dsDNA。Nt.BbvCI 常用于核酸等温扩增 (如 SDA、RCA), 由 Nt.BbvCI 产生 DNA 缺口, 触发聚合酶的链置换反应, 重复切割、置换、延伸过程从而实现核酸指数扩增。

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
Nt.BbvCI (5 U/μl)	30 μl
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 EcoBI 甲基化的 DNA, 剪切可能受阻。

活性定义:

1 活性单位(U)是指在 50 µl 反应体系中, 37°C 1 h 内可以完全将 1 µg 的超螺旋 p615 DNA 转化成开环形式所需的酶量。

超长时间温育检测:

将 5 U Nt.BbvCI 与超螺旋 p615 DNA 底物在 37°C温育 16 h, 通过琼脂糖凝胶电泳检测开环 DNA 无变化。

功能活性检测:

37°C下, 在 20 µl 通用 FastCut 反应体系中, 5 U Nt.BbvCI 能够在 15 min 内将 1 µg p615 转化成开环形式。

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 50 µl
10× FastCut Buffer 或 10× FastCut Color Buffer	5 µl
底物 DNA ^a	1 µg
Nt.BbvCI (5 U/µl)	1 µl
Total	50 µl

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 Nt.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 15 min~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	剪切受阻

在不同反应缓冲液中的活性

	FastCut Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB rCutSmart™ Buffer	Takara 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！

相关切刻内切酶产品：

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NBS8233</u>	<u>Nb.BbvCI</u>	300 U(10 U/μl)
<u>NBS8234</u>	<u>Nb.BsrDI</u>	2000 U(10 U/μl)
<u>NBS8235</u>	<u>Nt.BbvCI</u>	150 U(5U/μl)
<u>NBS8236</u>	<u>Nt.BspQI</u>	2000 U(10 U/μl)
<u>NBS8237</u>	<u>Nt.BstNBI</u>	2000 U(10 U/μl)