

Nt.BbvCI

REF: EG25520S

5'...C C T C A G C...3'
3'...G G A G T C G...5'

   

储存条件

-20°C保存 2 年

产品组成

组分	规格
Nt.BbvCI (5 U/μl)	30 μl
10× CutOne® Buffer	1 ml
10× CutOne® Color Buffer	1 ml

产品简介

Nt.BbvCI 是一种切割内切酶，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。

建议反应条件

1× CutOne® Buffer；
37°C 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。

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。

质量控制

功能活性检测

37°C 下，在 20 μl 通用 CutOne® 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。

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。

图标注释

-  最适反应温度为 37°C
 对于被 CpG 甲基化的 DNA，剪切可能受阻
 对于被 EcoBI 甲基化的 DNA，剪切可能受阻
 失活条件为 80°C 温育 20 min

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× CutOne® Buffer 或 10× CutOne® 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。

2. 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。

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

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

注：活性数据来自百时美限制酶标准反应体系下的检测。