

Nt.BstNBI

REF: EG24504S

5'...GAGTCNNNNN...3'
3'...CTCAGNNNNN...5'

储运条件

-20°C

产品组成

组分	规格
Nt.BstNBI (10 U/μl)	200 μl
10× Cut Buffer C	2×1 ml

产品简介

Nt.BstNBI 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。

建议反应条件

1× Cut Buffer C；

55°C 温育；

参照“DNA 酶切流程”配制反应体系。

本品在 37°C 进行酶切反应时，有 50% 的活性。

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，55°C 1 h 内可以完全将 1 μg 的超螺旋 pUC19 DNA 转化成开环形式所需的酶量。

质量控制

超长时间温育检测

将 10 U Nt.BstNBI 与超螺旋 pUC19 DNA 底物在 55°C 温育 16 h，通过琼脂糖凝胶电泳检测开环 DNA 无变化。

RNase 残留检测

将 10 U Nt.BstNBI 与 500 ng RNA 在 37°C 温育 1 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测超过 90% 的 RNA 仍保持完整。

图标注释

55 最适反应温度为 55°C

80 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× Cut Buffer C	5 μl
底物 DNA ^a	1 μg
Nt.BstNBI (10 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.BstNBI 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 55°C 温育 30 min~1 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
61	10	4	3	4	5	8	40

甲基化修饰影响

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
无影响	无影响	无影响	无影响	无影响