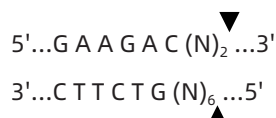


产品组分

组分名称	浓度	组分编号	规格
			500 U
BbsI	20,000 U/mL	RM21631	25 µL
10X Buffer CutS	10X	RM20103	1.25 mL

产品说明

识别位点



活性定义

1 活性单位 (U) 是指在 50 µL 反应体系中, 37°C 1 hr 内完全酶切 1 µg λDNA 所需的酶量。

保存温度

-20°C

酶切反应条件

1X Buffer CutS, 37°C 反应

快切

是, 在推荐反应体系下孵育 5-15 min 可完全酶切底物

热失活

80°C 温育 20 min

操作说明

1. 在冰上按照下面表格中的建议顺序配制反应体系, 最后加入内切酶。

推荐的酶切反应体系 (以 50 µL 体系为例)

组分	加入量
ddH ₂ O	Up to 50 µL
10X Buffer CutS	5 µL
DNA*	1 µg
BbsI	1 µL

* 注: DNA 底物中应不含苯酚、氯仿、乙醇、EDTA、洗涤剂或高浓度盐, 否则将会影响酶活性。

2. 通过移液器上下吹打或者轻弹反应管混匀, 然后在微型离心机中短暂离心, 切勿旋涡混匀。

3. 37°C 孵育 5-15 min。

4. 80°C 温育 20 min 终止反应, 或者通过吸附柱或苯酚/氯仿纯化终止反应。

注意事项

1. 酶

- 从冰箱拿出后请一直置于冰上, 使用完毕后宜立即放置于 -20°C 保存。
- 在反应体系中最后加入酶组分。

2. DNA

- DNA 底物中应不含苯酚、氯仿、乙醇、EDTA、洗涤剂或高浓度盐, 会影响酶切活性, 推荐若底物为 PCR 扩增产物, 建议纯化后进行酶切。
- 甲基化的 DNA 会抑制某些限制性内切酶的酶切反应。
- 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

3. 反应体积

- 推荐在 50 µL 反应体系下酶切 1 µg DNA 底物。
- 反应体系中加入的酶的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。
- 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。