

BstXI 内切酶

货号: F4516S 储存条件: -20℃

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

产品组成

组分	规格		
LabFD™ BstXl (10U/μl)	50 μl		
10× HN Buffer	1 ml		

产品简介

BstXI 属于 Type IIP 型限制酶,识别回文序列。经过优化的反应 Buffer 使 BstXI 最大限度发挥功能,同时反应缓冲液 包含重组白蛋白, 其可增强多种酶的稳定性

建议反应条件

1×HN 缓冲液; 37℃温育;参照 "DNA 快速酶切流程"配制反应体系。

失活条件

80℃温育 20 min。

活性定义

1 活性单位 (U) 是指在 50 μ l 反应体系中,37℃ 1 h 内完全酶切 1 μ g λ DNA 所需的酶量。

质量控制

超长时间温育检测

最适反应温度下,将 10 U BstXI 与 1 μg λDNA 共同温育 16 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。

酶切-连接-再酶切检测

最适反应温度下,使用 10 U BstXI 消化底物,回收酶切产物。在 22℃下使用适量 T4 DNA Ligase (Fast)可以将酶切 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连接产物。





使用方法

1. DNA 快速酶切流程

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 50ul
10×HN Buffer	5ul
底物 DNAª	1ug
BstXI (10U/ul)	1ul
Total	50ul

- 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 BstXI 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℃温育 15 min~1 h
- 4) 80℃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	ФХ174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
13	3	0	0	0	1	0	10

甲基化修饰影响

Dam	Dcm	n CpG	i EcoKI	EcoBl
无影响	剪切受影	影响 无影响	向 无影响	无影响

在不同反应缓冲液中的活性

	LabFD™ Buffer	Thermo Scientific	NEB	Takara	
	Eubi D Builei	FastDigest Buffer	rCutSmart®Buffer	QuickCut™Buffer	
活性	25%	100%	25%	100%	

注:活性数据来自 LABLEAD 限制酶标准反应体系下的检测。

