



兰博利德 LABLEAD

高新技术企业

Bpil

产品货号: F7525S

储存条件: -20°C, 有效期两年

5'...G A A G A C (N)₂...3'
3'...C T T C T G (N)₆...5'

同裂酶: BstV2I, BbsI, 注: 同裂酶对于不同的甲基化修饰可能具有不同敏感性。

产品组成

组分	规格
Bpil (10 U/ul)	25 ul
10×LabFD Buffer	1 ml
10×LabFD color Buffer	1 ml

产品简介

Bpil属于Type IIS型限制酶, 特异性识别GAAGAC序列, 并在下游进行切割, 产生4碱基突出的5'末端, 属于Golden Gate组装的常用酶之一。Bpil使用LabFD®通用缓冲液, 可搭配LabFD®系列限制酶进行双酶切, 用于Golden Gate组装 以外的常规克隆或酶切鉴定等场景。

建议反应条件: 1×LabFD buffer; 37°C温育; 参照“DNA 快速酶切流程”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 内完全酶切 1 μg λDNA 所需的酶量。

质量控制

功能活性检测

37°C下, 在 20ul 反应体系中, 10 U Bpil 能够在 15min 内完全消化 1ug λDNA。

超长时间温育检测

37°C下, 将10 U Bpil 与1ug λDNA 共同温育 3h, 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, 延时酶切可能出现星号活性。

酶切-连接-再酶切检测

37°C下, 使用2 U Bpil 消化底物, 回收酶切产物。在22°C下使用适量 T4 DNA Ligase (Fast)可以将 < 10%的酶切产物重新连接。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 50 ul
10×LabFD Buffer 或 10×LabFD color Buffer	5 ul
底物 DNA ^a	1 ug
Bpil (10 U/ul)	1 ul
Total	50 ul

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Bpil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 1~3h；

(4) 80°C温育 20 min 即可使酶失活，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
24	3	3	0	0	3	0	27

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

在不同反应缓冲液中的活性

	LabFD™ Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB CutSmart® Buffer	Takara QuickCut™ Buffer
活性	100%	25%	100%	50%

注：活性数据来自 LABLEAD 限制酶标准反应体系下的检测。

