

BeyoFast™ NcoI

产品编号	产品名称	包装
D5793-30μl	BeyoFast™ NcoI	30μl

产品简介:

- 碧云天生产的BeyoFast™系列快速内切酶是一系列经过基因工程重组、能够在5-15分钟内仅使用一种缓冲液就能快速完成DNA酶切的高品质限制性内切酶。
- BeyoFast™系列快速内切酶适用于质粒DNA、PCR产物或基因组DNA等的快速酶切。
- BeyoFast™系列快速内切酶具有如下优点。(1) 5-15分钟内就能完成酶切；(2) 所有BeyoFast™系列内切酶共用一种酶切缓冲液CutEZ™ Buffer, 大大简化酶切反应体系, 方便进行双酶切或多酶切；(3) 针对不同酶在CutEZ™ Buffer中活性存在差异的问题, 调整了不同酶的浓度, 可以统一按照每20μl体系加入1μl酶量的用量进行酶切反应；(4) Alkaline Phosphatase、Antarctic Phosphatase、T4 DNA Ligase、T4 Polynucleotide Kinase、T4 PNK (3' phosphatase minus)等很多修饰酶等都100%兼容CutEZ™ Buffer (具体的兼容性表请参考<https://www.beyotime.com/product/D6018.htm>), 使‘酶切-连接’和‘酶切-修饰-连接’等反应体系可以兼容, 支持一管化反应；(5) 良好的酶活冗余度, 轻松应对底物过量或困难模板酶切。
- **酶活性检测:** 最适反应温度下, 在20μl反应体系中, 1μl BeyoFast™ NcoI能够在15min内完全消化1μg含有单个NcoI酶切位点的质粒。

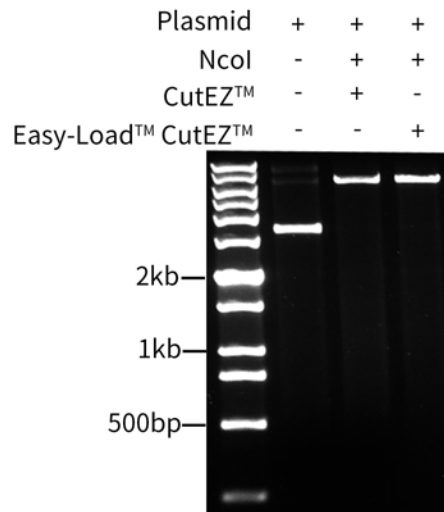


图1. 碧云天生产的BeyoFast™ NcoI (D5793)酶活性实测效果图。20μl反应体系中包含1μg pTac-His-MBP-PreScission (原核活性蛋白高表达质粒) (D5001) (6669bp), 以及如图所示不添加或添加1μl BeyoFast™ NcoI, 分别使用1X CutEZ™ Buffer和1X Easy-Load™ CutEZ™ Buffer, 37°C孵育15分钟进行酶切反应, 80°C孵育20分钟使酶失活, 然后电泳并使用NA-Red (EB升级换代产品, 2000X) (D0128/D0130)进行核酸染色, 再进行荧光成像分析。所使用的DNA marker为DNA Ladder (0.2-12kb, 12 bands) (D0110)。实际检测效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中效果仅供参考。

- **长时间酶切检测:** 最适反应温度下, 将1μl BeyoFast™ NcoI与1μg 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:** 最适反应温度下, 使用1μl BeyoFast™ NcoI消化底物, 回收酶切产物, 在22°C下使用适量T4 DNA Ligase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。
- **非特异性内切酶活性检测:** 最适反应温度下, 将1μl BeyoFast™ NcoI与1μg超螺旋质粒DNA共同温育4h, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 质粒DNA仍然处于超螺旋状态。
- **蓝白斑检测:** 将含有单一-lacZα基因的载体以1μl BeyoFast™ NcoI消化, 重新连接后转化入大肠杆菌感受态细胞, 涂布在含有对应抗生素、IPTG和X-gal的LB培养基平板上。连接正确的产物会生长出蓝色菌落, 而连接错误(即DNA末端切口不完整)的产物将得到白色菌落。对于BeyoFast™系列限制酶而言, 白色菌落比例应小于1%。
- BeyoFast™ NcoI快速内切酶基本信息如下:

识别序列[1]	同裂酶	酶切温度	失活条件	甲基化干扰?
5'-C^CATGG-3'	Bsp19I	37°C	80°C 20min	无干扰

3'-GGTAC [^] C-5'				
----------------------------	--	--	--	--

➤ BeyoFast™ NcoI快速内切酶在不同反应缓冲液中的活性(缓冲液兼容性)如下:

Beyotime CutEZ™ Buffer	Beyotime Easy-Load™ CutEZ™ Buffer	Thermo FastDigest Buffer	NEB CutSmart® Buffer	Takara QuickCut™ Buffer
100%	100%	100%	100%	100%

注: 活性数据来自碧云天BeyoFast™系列快速内切酶的标准反应体系下的检测。

➤ BeyoFast™ NcoI快速内切酶识别位点的甲基化影响请参考下表:

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

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D5793-30μl	BeyoFast™ NcoI	30μl
D6018-120μl	10X CutEZ™ Buffer	120μl
D6020-120μl	Easy-Load™ 10X CutEZ™ Buffer	120μl
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存, 两年有效。

注意事项:

- 内切酶使用时宜存放在冰盒内或冰浴上, 使用完毕后宜立即放置于-20°C保存。
- 不含核酸酶的超纯水推荐选购碧云天的BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile) (ST876)。
- 如果发现预期的酶切位点不能切开, 请确认是否存在甲基化干扰问题。
- 同裂酶对于不同的甲基化修饰可能具有不同敏感性, 遇到可能存在甲基化干扰问题时, 可以尝试同裂酶。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 单酶切时可以参考如下反应体系, 在冰浴上进行操作。

Reagent	Plasmid DNA	PCR Product	Genomic DNA
Ultrapure Water	(17-x)μl	(26-x)μl	(40-x)μl
10X CutEZ™ Buffer or Easy-Load™ 10X CutEZ™ Buffer	2μl	3μl	5μl
Substrate DNA	xμl (up to 1μg)	xμl (~0.2μg)	xμl (5μg)
BeyoFast™ NcoI	1μl	1μl	5μl
Total volume	20μl	30μl	50μl
Incubate at 37°C	15min	15-30min	30-60min

注: 上述反应体系适用于经过纯化的PCR产物酶切。未纯化的PCR产物有一定的离子强度和pH, 10X CutEZ™ Buffer加入量可适当减少至2μl。但由于很多DNA聚合酶同时具有外切酶活性, 会影响酶切产物, 因此如下一步需进行连接、克隆等操作, 建议酶切前对PCR产物进行纯化。

- 参考上表依次加入各种液体后, 用移液器轻柔吸打或轻弹管壁以混匀(切勿涡旋混合), 然后瞬时离心以沉降液体至管底。
 - 37°C温育15min (质粒), 或15-30min (PCR产物), 或30-60min (基因组DNA)。酶切反应时优先推荐使用水浴, 反应温度通常更加恒定一些。
 - 80°C温育20min即可使酶失活并停止反应(可选)。
2. 双或多酶切时可以在参考上表单酶切反应体系设置的基础上, 参考如下原则设置反应体系。
- 每种快速内切酶的用量为1μl, 并根据需要适当扩大反应体系;
 - 所有快速内切酶的体积总和不得超过总反应体系的1/10;
 - 如果所用的几种快速内切酶的最适反应温度不同, 应先从最适温度低的酶开始酶切, 再添加最适温度较高的酶, 在其最适反应温度下进行酶切反应。

参考文献:

- Shankarappa R. Curr Protoc Mol Biol. 2001. Appendix 3: Appendix 3E.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D5601-200μl	BeyoFast™ ApaLI	200μl
D5609-50μl	BeyoFast™ AscI	50μl
D5617-25μl	BeyoFast™ AvrII	25μl
D5625-500μl	BeyoFast™ BamHI	500μl
D5633-125μl	BeyoFast™ BclI	125μl
D5641-100μl	BeyoFast™ BglII	100μl
D5649-50μl	BeyoFast™ BsaI	50μl
D5653-20μl	BeyoFast™ BspQI	20μl
D5657-100μl	BeyoFast™ BstBI	100μl
D5665-100μl	BeyoFast™ BstEII	100μl
D5670-100μl	BeyoFast™ Cfr9I	100μl
D5673-50μl	BeyoFast™ ClaI	50μl
D5681-50μl	BeyoFast™ DpnI	50μl
D5689-50μl	BeyoFast™ DpnII	50μl
D5692-200μl	BeyoFast™ DraI	200μl
D5697-25μl	BeyoFast™ EagI	25μl
D5699-20μl	BeyoFast™ EarI	20μl
D5705-600μl	BeyoFast™ EcoRI	600μl
D5713-200μl	BeyoFast™ EcoRV	200μl
D5721-30μl	BeyoFast™ Esp3I (BsmBI)	30μl
D5729-50μl	BeyoFast™ FspI	50μl
D5737-500μl	BeyoFast™ HindIII	500μl
D5745-500μl	BeyoFast™ HinfI	500μl
D5753-50μl	BeyoFast™ HpaI	50μl
D5761-30μl	BeyoFast™ KasI	30μl
D5769-200μl	BeyoFast™ KpnI	200μl
D5777-100μl	BeyoFast™ MluI	100μl
D5785-50μl	BeyoFast™ MnlI	50μl
D5789-200μl	BeyoFast™ MspI	200μl
D5793-30μl	BeyoFast™ NcoI	30μl
D5801-200μl	BeyoFast™ NdeI	200μl
D5809-30μl	BeyoFast™ NheI	30μl
D5817-50μl	BeyoFast™ NotI	50μl
D5825-50μl	BeyoFast™ NruI	50μl
D5833-25μl	BeyoFast™ NsiI	25μl
D5841-25μl	BeyoFast™ PacI	25μl
D5847-50μl	BeyoFast™ PmeI	50μl
D5849-500μl	BeyoFast™ PstI	500μl
D5857-200μl	BeyoFast™ PvuII	200μl
D5865-100μl	BeyoFast™ SacI	100μl
D5873-50μl	BeyoFast™ SacII	50μl
D5881-200μl	BeyoFast™ SalI	200μl
D5885-20μl	BeyoFast™ SapI	20μl
D5889-25μl	BeyoFast™ SbfI	25μl
D5893-100μl	BeyoFast™ ScaI	100μl
D5897-100μl	BeyoFast™ SfiI	100μl
D5905-100μl	BeyoFast™ SmaI	100μl
D5913-50μl	BeyoFast™ SpeI	50μl
D5921-50μl	BeyoFast™ SphI	50μl
D5929-60μl	BeyoFast™ SspI	60μl
D5937-100μl	BeyoFast™ StuI	100μl

D5945-200μl	BeyoFast™ TaqI	200μl
D5953-500μl	BeyoFast™ XbaI	500μl
D5958-50μl	BeyoFast™ XcmI	50μl
D5961-500μl	BeyoFast™ XhoI	500μl
D5966-100μl	BeyoFast™ XmaI	100μl

Version 2023.11.22