



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
 订货热线: 400-1683301 或 800-8283301
 订货 e-mail: order@beyotime.com
 技术咨询: info@beyotime.com
 网址: http://www.beyotime.com

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 λDNA。
- **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	同裂酶	酶切温度	失活条件	甲基化干扰?
5'-C [^] CATGG-3' 3'-GGTAC [^] C-5'	Bsp19I	37°C	80°C 20min	无干扰

- 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
D6018-1ml	10X CutEZ™ Buffer	1ml
D6020-1ml	Easy-Load™ 10X CutEZ™ Buffer	1ml
—	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碧云天的ST876 BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)。
- 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) μ l	(26-x) μ l	(40-x) μ l
10X CutEZ™ Buffer or Easy-Load™ 10X CutEZ™ Buffer	2 μ l	3 μ l	5 μ l
Substrate DNA	x μ l(up to 1 μ g)	x μ l(~0.2 μ g)	x μ l(5 μ g)
BeyoFast™ NcoI	1 μ l	1 μ l	5 μ l
Total volume	20 μ l	30 μ l	50 μ l
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2 μ l。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。

- a. 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。
 - b. 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。
 - c. 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。
 - a. 每种快速内切酶的用量为1 μ l，并根据需要适当扩大反应体系；
 - b. 所有快速内切酶的体积总和不得超过总反应体系的1/10；
 - c. 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。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D6049	ApaI	2000U
D6053	BamHI	2000U
D6093	BglII	500U
D6257	DpnI	500U
D6258	DpnI	2500U
D6329	EcoRI	2000U
D6330	EcoRI	5000U
D6337	EcoRV	1500U
D6389	HindIII	2000U
D6390	HindIII	5000U
D6417	KpnI	1000U
D6449	MluI	1000U
D6481	NcoI	200U
D6485	NdeI	400U
D6489	NheI	200U
D6497	NotI	150U
D6565	PstI	1000U
D6566	PstI	3000U
D6581	PvuII	1000U
D6585	RsaI	200U
D6593	SacI	500U
D6597	SalI	1000U

D6633	SmaI	500U
D6713	XbaI	1500U
D6721	XhoI	2000U
D6847-50µl	SgeI	50µl
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
D5657-100µl	BeyoFast™ BstBI	100µl
D5665-100µl	BeyoFast™ BstEII	100µl
D5673-50µl	BeyoFast™ ClaI	50µl
D5681-50µl	BeyoFast™ DpnI	50µl
D5689-50µl	BeyoFast™ DpnII	50µl
D5697-25µl	BeyoFast™ EagI	25µl
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
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
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
D5889-25µl	BeyoFast™ SbfI	25µl
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
D5961-500µl	BeyoFast™ XhoI	500µl