LightNing® BstEII

REF: EG15528S

5'...G▼GTNACC...3'
3'...CCANTG▲G...5'

⚡ 37 EK EB ♨ ★

同裂酶：BstPI，Eco91I，EcoO65I，PspEI
注：同裂酶对于不同的甲基化修饰可能具有不同敏感性。

储存条件

-20℃保存 2 年

产品组成

组分	规格
LightNing® BstEII	100 µl
10× CutOne® Buffer	1 ml
10× CutOne® Color Buffer	1 ml

产品简介

LightNing® 快速内切酶是一系列经过基因工程重组的快速限制性内切酶，适用于质粒 DNA、PCR 产物或基因组 DNA 等的快速酶切。所有 LightNing® 快速内切酶在通用的 CutOne® 或 CutOne® Color Buffer 中都具有优良的活性，能够在 5~15 分钟内完成酶切。此外，百时美去磷酸化、连接试剂在 CutOne® Buffer 中均具有 100% 活性，支持一管化反应，提升“酶切 - 修饰 - 连接”的体验。

CutOne® Color Buffer 包括红色和黄色示踪染料，可将产物直接用于凝胶电泳。CutOne® Color Buffer 的红色染料与 2500 bp 双链 DNA 片段在 1% 琼脂糖凝胶中迁移速率接近；黄色染料与 10 bp 双链 DNA 片段在 1% 琼脂糖凝胶中迁移速率接近。

建议的反应条件

1× CutOne® 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

不可热失活，请使用酚氯仿抽提或柱纯化。

质量控制

功能活性检测

37℃下，在 20 µl 通用 CutOne® 反应体系中，1 µl LightNing® BstEII 能够在 15 min 内完全消化 1 µg λDNA。

超长时间温育检测

37℃下，在 20 µl 通用 CutOne® 反应体系中，将 1 µl LightNing® BstEII 与 1 µg λDNA 共同温育 3 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。更长时间酶切可能出现星号活性。

酶切 - 连接 - 再酶切检测

37℃下，使用 10 倍酶量的 LightNing® BstEII 消化 DNA 底物，回收酶切产物，在 22℃下使用 T4 DNA Ligase (Fast) 可以将超过 95% 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 95% 以上的连接产物。

非特异性内切酶活性检测

37℃下，在 20 µl 通用 CutOne® 反应体系中将 1 µl LightNing® BstEII 与 1 µg 超螺旋质粒 DNA 共同温育 4 h 后，使用琼脂糖凝胶电泳检测，少于 10% 的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

图标注释

⚡ 快速内切酶，可在 5~15 min 内完成反应
37 最适反应温度为 37℃
EK 对于被 EcoKI 甲基化的 DNA，剪切可能受阻
EB 对于被 EcoBI 甲基化的 DNA，剪切可能受阻
♨ 不可热失活
★ 3 h 温育未表现星号活性，延时酶切可能出现星号活性

江苏愚公生物科技有限公司 / 江苏百时美生物科技有限公司
Yugong Biotech Co., Ltd. / BestEnzymes Biotech Co., Ltd
Tel: 0518-8558 6628 • E-mail:support@best-enzymes.com • www.best-enzymes.com
最终解释权所有 © 江苏愚公生物科技有限公司，保留一切权利
ISO 13485 高新技术企业
愚公生物微信公众号 愚公生物科研小助手 愚公生物微信视频号

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：

	质粒 DNA	PCR 产物	基因组 DNA
ddH_2O	15 µl	16 µl	30 µl
10× CutOne® Buffer 或 10× CutOne® Color Buffer	2 µl	3 µl[a]	5 µl
底物 DNA	2 µl (up to 1 µg)	10 µl (~0.2 µg)	10 µl (5 µg)
LightNing® BstEII	1 µl	1 µl	5 µl
Total	20 µl	30 µl	50 µl

a. 本体系适用于经过纯化的 PCR 产物酶切。未纯化的 PCR 产物具备一定的离子强度，10× CutOne® Buffer 加入量可适当减少至 2 µl。但由于 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克隆等操作，建议酶切前对 PCR 产物进行纯化。

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（质粒），或 15~30 min（PCR 产物），或 30~60 min（基因组 DNA）；
④ 酚氯仿抽提或柱纯化（可选）；
⑤ 如果使用 CutOne® Color Buffer 进行酶切反应，得到的产物可以直接进行上样电泳。

2. 双酶切或多酶切

① 每种快速内切酶的用量为 1 µl，并根据需要适当扩大反应体系；
② 所有快速内切酶的体积总和不得超过总反应体系的 1/10；
③ 如果所用的几种快速内切酶的最适反应温度不同，应先以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；

3. 适用于质粒的扩大反应体系

DNA	1 µg	2 µg	3 µg	4 µg	5 µg
LightNing® BstEII	1 µl	2 µl	3 µl	4 µl	5 µl
10× CutOne® Buffer 或 10× CutOne® Color Buffer	2 µl	2 µl	3 µl	4 µl	5 µl
Total	20 µl	20 µl	30 µl	40 µl	50 µl

注：如果总反应体系大于 20 µl，应适当增加温育时间，尽量使用水浴、金属浴或沙浴。

不同 DNA 中的酶切位点数量

λDNA	ΦX174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
13	0	0	0	0	0	0	10

甲基化修饰影响

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
无影响	无影响	无影响	剪切受影响	剪切受影响

在不同反应缓冲液中的活性

	CutOne® Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB rCutSmart™ Buffer	Takara QuickCut™ Buffer
活性	100%	75%	100%	75%

注：活性数据来自百时美限制酶标准反应体系下的检测。

DNA 修饰酶在 CutOne® Buffer 和 CutOne® Color Buffer 中的活性

EG15208S Alkaline Phosphatase (Fast)	100%
EG15205S T4 DNA Ligase (Fast)	100%

注：活性数据来自百时美标准反应体系下的检测；T4 DNA Ligase(Fast) 需要 ATP 作为辅助因子。

江苏愚公生物科技有限公司 / 江苏百时美生物科技有限公司
Yugong Biotech Co., Ltd. / BestEnzymes Biotech Co., Ltd
Tel: 0518-8558 6628 • E-mail:support@best-enzymes.com • www.best-enzymes.com
最终解释权所有 © 江苏愚公生物科技有限公司，保留一切权利
ISO 13485 高新技术企业
愚公生物微信公众号 愚公生物科研小助手 愚公生物微信视频号