FlyCut® NotI
NotI快速内切酶

使用前请仔细阅读说明书

目录号： JN401

保存： -18℃及其以下温度下保存两年。

浓度： 20000 units/ml

识别位点

5'…GC▼GGCCGC…3'

3'…CGCCGG▲CG…5'

产品说明

本产品由重组NotI基因的载体，在大肠杆菌中经诱导表达、纯化而成，分子量大小为43.3 kDa，识别位点为：GC^GGCCGC。反应温度为37℃，热失活条件为65℃加热20分钟。对dam，dcm甲基化不敏感，对哺乳动物DNA的CpG甲基化敏感。

特点

- 5分钟快切。
- 通用缓冲液。
- 无星号活性。

适用范围

基因组DNA，质粒DNA，PCR产物。

产品组成

Component	JN401-01	JN401-02
FlyCut® NotI	250 units	2×250 units
10×*FlyCut*® Buffer	250 µl	250 µl
10×DNA Loading Buffer	1 ml	1 ml

活性定义

1单位是指50 µl反应体系中，37℃时1小时完全消化1 µg λDNA所需的酶量。

质量控制

连接和再切： 10倍过量*FlyCut*® NotI消化，95%以上的DNA片段能够在25℃条件下用T4 DNA连接酶连接，连接后的片段95%可以被切开。

16小时孵育： 10单位酶在50 µl反应体系中与1 µg DNA孵育16小时，效果与1单位酶孵育1小时的带型一样。

酶切末端完整性： 酶切、连接含LacZα基因（唯一位点）的质粒转化于涂有X-gal/IPTG的平板上，β-半乳糖苷酶的成功表达是检测基因在克隆后保持完整性的标准。蓝色菌落表示基因的完整，白色菌落表示基因被破坏，经酶消化后的白色菌落必须少于3%。

核酸外切酶活性： 50 µl反应体系中，100单位酶与1 µg ^{3}H标记的DNA（PCR纯化产物），在37℃条件下，孵育4小时，释放不超过0.1%的放射性物质。

核酸内切酶活性： 50 µl反应体系中，15单位酶与1 µg pBR322 DNA在37℃条件下，孵育4小时，RFI型转变为RFII型的比例不超过10%。

酶贮存缓冲液

20 mM Tris-HCl pH 7.4, 250 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 1.5 mM DTT, 400 µg/ml BSA, 50% Glycerol

10×*FlyCut*® Buffer

500 mM Tris-Ac pH 7.9, 1 M KAc, 120 mM $MgAc_2$, 1 mg/ml BSA

推荐单酶切反应体系

Component	Volume	Volume
DNA	≤1 µg	1-2 µg
10×*FlyCut*® Buffer	2 µl	5 µl
FlyCut® NotI	0.5 µl	1 µl
Nuclease-free Water	Variable	Variable
Total volume	20 µl	50 µl

使用前请将*FlyCut*® Buffer充分混匀；
酶切不完全或酶切2 μg以上的DNA时，适当增加酶量，但总酶量不超过体系的1/10。
不同DNA由于其结构不同会导致酶切的效果不同，因此可根据酶切效果调整反应时间。

反应条件

37℃孵育5-15分钟；终止反应时，可加入10×DNA Loading Buffer至终浓度1×，或者65℃加热20分钟。

推荐双酶切反应体系

Component	Volume
DNA	≤2 μg
10×*FlyCut*® Buffer	5 μl
FlyCut® Enzyme I	1 μl
FlyCut® Enzyme II	1 μl
Nuclease-free Water	Variable
Total volume	50 μl

使用前请将*FlyCut*® Buffer充分混匀；
酶切不完全或酶切2 μg以上的DNA时，适当增加酶量，但总酶量不超过体系的1/10。
不同DNA由于其结构不同会导致酶切的效果不同，因此可根据酶切效果调整反应时间。

反应条件

在推荐反应温度下，孵育5-15分钟。终止反应时，可加入10×DNA Loading Buffer至终浓度为1×，或者加热失活。
如果两种酶反应温度不同，参考“双酶切反应注意事项”。

双酶切反应注意事项

FlyCut® Buffer能使任意两种酶在其中保证100%活性并降低星号活性的影响。

- 按照推荐条件建立反应体系。反应体系中甘油的浓度应<5%以避免星号活性。例如：50 μl反应体系中总酶量不超过5 μl。
- 在推荐反应温度、时间下孵育，双酶切反应不建议孵育过夜。
- 如果两种酶反应温度不同，加入第一种酶在推荐的温度下孵育，如SmaI (推荐反应温度25℃)，热失活第一种酶后再加入第二种酶，按推荐温度孵育。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。
版本号：V1-202008
服务电话 +86-10-57815020
服务邮箱 complaints@transgen.com