

## BbvCI

REF: EG25516S

5'...CCTCAGC...3'  
3'...GGAGTCG...5'



### 储存条件

-20°C保存 2 年

### 产品组成

组分	规格
BbvCI (2 U/μl)	25 μl
10× CutOne® Buffer	1 ml
10× CutOne® Color Buffer	1 ml

### 产品简介

BbvCI 来源于短芽孢杆菌 (*Bacillus brevis*) (L. Ge) 的 BbvCI 基因，经大肠杆菌重组表达获得。BbvCI 属于 Type IIA 类限制酶，以异源二聚体形式存在，由两个不同的催化亚基构成，每个亚基具有独立的切割位点。BbvCI 识别并切割非回文序列 CCTCAGC(-5/-2)，形成 5' 端 3 碱基突出的粘性末端。BbvCI 使用 Cutone® 反应缓冲液，可与其他 LightNing® 系列限制酶进行双酶切，但不建议长时间酶切（超过 3 h），以避免产生星号活性。

BbvCI 在通用的 CutOne® 或 CutOne® Color Buffer 中都具有良好的活性。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。

### 建议反应条件

1× CutOne® Buffer;  
37°C 温育;  
参照“DNA 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，2 U BbvCI 能够在 15 min 内完全消化 1 μg λDNA。

#### 超长时间温育检测

37°C 下，将 2 U BbvCI 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。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 BbvCI 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 95% 以上连接产物。

### 图标注释

- 最适反应温度为 37°C
- 对于被 CpG 甲基化的 DNA，剪切可能受阻
- 失活条件为 80°C 温育 20 min
- 3 h 温育未表现星号活性，更长时间酶切可能出现星号活性

### 使用方法

#### 1. DNA 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 <sub>2</sub> O	up to 50 μl
10× CutOne® Buffer 或 10× CutOne® Color Buffer	5 μl
底物 DNA <sup>a</sup>	1 μg
BbvCI (2 U/μl)	1 μl
Total	50 μl

- a. DNA 底物中应不含苯酚、氯仿、乙醇、EDTA、洗涤剂或高浓度盐，否则会影响 BbvCI 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 1~3 h；
- ④ 80°C 温育 20 min 即可使酶失活，停止反应，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
7	3	0	0	0	0	2	9

## 甲基化修饰影响

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

## 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%	100%	100%	100%

注：活性数据来自百时美限制酶标准反应体系下的检测。