

# Nco I

## 使用说明书

货号/规格: E1026-A/20 rxns, E1026-B/100 rxns

识别位点:

5'        C ↓ C   A   T   G   G        3'  
3'        G   G   T   A   C ↑ C        5'

### 产品简介

Nco I 限制性内切酶可识别 C<sup>^</sup>CATGG 位点, 于 37°C 下使用通用型缓冲液在 5-15 分钟内的切割效果最佳。

东盛限制性内切酶在 *Digest* 和 *Green* 反应缓冲液中均具备 100% 活性。

通用型 *Digest* 缓冲液可实现 5-15 分钟内快速完成 DNA 单酶切、双酶切或多酶切, 无需更换缓冲液或后续 DNA 纯化步骤。DNA 修饰酶 (如 *Klenow* 片段、*T4 DNA* 连接酶、碱性磷酸酶和 *T4 DNA* 聚合酶) 在缓冲液中均具有 100% 活性。因此, 在下游应用中使用的酶可直接添加至反应混合物中。较短的孵育时间和较优的通用型 *Digest* 缓冲液组成消除了星活性效应。

*Green* 缓冲液包括用于直接将酶切反应产品上样至凝胶的 1 种密度试剂和 2 种示踪染料。

### 产品组成

组分	E1026-A	E1026-B
Nco I	20 $\mu$ L	100 $\mu$ L
10X <i>Digest</i> Buffer	1 mL	1 mL
10X <i>Green</i> Buffer	1 mL	1 mL

### 储存条件

保存于 -20°C。

### 特点

- 所有东盛限制性内切酶在通用型缓冲液中 100% 活性

- 与下游应用的 100% 缓冲液兼容性
- 5 - 15 分钟内即可完成酶切
- 直接上样至凝胶
- 无星活性

### 适用范围

- 分子克隆
- 限制位点作图
- 基因分型
- *Southern* 印迹
- 限制性片段长度多态性 (*RFLP*)
- *SNP* 分析

### 建议反应条件

- 1X *Digest Buffer* 或 1X *Green Buffer*
- 37°C 孵育。
- 1  $\mu$ L Nco I 可酶切的最大量:
  - 1  $\mu$ g *lambda DNA*, 5 min
  - 1  $\mu$ g 质粒 DNA, 10 min
  - 0.2  $\mu$ g PCR 产物, 10 min
  - 1  $\mu$ g 基因组 DNA, 5 min, 或 5  $\mu$ g 基因组 DNA, 30 min

### 热失活

65°C 加热 15 min。

### 甲基化对酶切的影响

*Dam*: 从不重叠-无影响。

*Dcm*: 从不重叠-无影响。

*CpG*: 从不重叠-无影响。

*EcoKI*: 从不重叠-无影响。

*EcoBI*: 从不重叠-无影响。

**不同 DNA 中的酶切位点数量**

$\lambda$ DNA	$\Phi$ X174	pBR322	pUC57	pUC18/19	pTZ19R/U	M13mp18/19
4	0	0	0	0	0	0

**使用方法**
**不同 DNA 的快速酶切**

① 室温下按以下顺序准备反应体系:

Component	质粒 DNA	PCR 产物	基因组 DNA
Nuclease-free Water	15 $\mu$ L	17 $\mu$ L	30 $\mu$ L
10X Digest Buffer 或 10X Green Buffer	2 $\mu$ L	2 $\mu$ L	5 $\mu$ L
DNA	2 $\mu$ L (up to 1 $\mu$ g)	10 $\mu$ L (~0.2 $\mu$ g)	10 $\mu$ L (5 $\mu$ g)
enzyme	1 $\mu$ L	1 $\mu$ L	5 $\mu$ L
Total volume	20 $\mu$ L	30 $\mu$ L	50 $\mu$ L

② 温和混匀并瞬离。

③ 在 37°C 孵育 5 分钟(基因组 DNA), 或 10 分钟(质粒 DNA 和 PCR 产物)。

可选: 65°C 加热 15 min 使酶失活。

**DNA 的双酶切或多酶切**

- 反应混合物中酶的总体积不应超过总反应体积的 1/10。
- 每种酶用量为 1 $\mu$ L, 适当放大反应条件。
- 如果酶需要不同的反应温度, 从需要较低温度的酶开始, 然后加入第二种酶, 在较高的温度下孵育。

**质粒 DNA 的扩大反应体系**

Component	20- $\mu$ L rxn	20- $\mu$ L rxn	30- $\mu$ L rxn	40- $\mu$ L rxn	50- $\mu$ L rxn
DNA	1 $\mu$ g	2 $\mu$ g	3 $\mu$ g	4 $\mu$ g	5 $\mu$ g
enzyme	1 $\mu$ L	2 $\mu$ L	3 $\mu$ L	4 $\mu$ L	5 $\mu$ L
10X Digest Buffer 或 10X Green Buffer	2 $\mu$ L	2 $\mu$ L	3 $\mu$ L	4 $\mu$ L	5 $\mu$ L

Total volume	20 $\mu$ L	20 $\mu$ L	30 $\mu$ L	40 $\mu$ L	50 $\mu$ L
--------------	------------	------------	------------	------------	------------

注意: 注:若总反应量超过 20 $\mu$ L, 则增加孵育时间 3-5 min。使用水恒温器, 不建议使用空气恒温器, 因为热量传递到反应混合物的速度很慢。

本品仅供科学研究使用。