



NheI

产品信息

组分编号	组分名称	产品规格	运输保存
RZ14010-A	NheI	30 µL	冰袋运输
RZ14010-B	10× Buffer	1 mL	-20°C 保存

产品描述

本公司系列内切酶是通过基因工程重组技术，可在 5~15 min 内精确完成 DNA 切割的快速限制性内切酶，适用于快速切割质粒 DNA、PCR 产物、基因组 DNA 等。本公司系列快速内切酶共用一种酶切缓冲液，从而简化了酶切反应体系，另外，有良好的酶活冗余度，可轻松处理底物过量或困难模板的酶切。

识别位置

5'-G↓CTAGC-3'
3'-CGATC↑G-5'

推荐反应条件

1×缓冲液；
最适 37°C 孵育。

失活条件

80°C 孵育 20 min。

使用方法

1. DNA 快速酶切流程

1) 按如下建议的加样顺序配制体系反应液（冰上操作）：

组分	质粒 DNA	PCR 产物	基因组 DNA
ddH ₂ O	15 µL	16 µL	30 µL
10× Buffer	2 µL	3 µL*	5 µL
DNA	2 µL (~1 µg)	10 µL (~0.2 µg)	10 µL (5 µg)
NheI	1 µL	1 µL	5 µL
Total	20 µL	30 µL	50 µL

*本体系指已纯化后的 PCR 产物。未纯化的 PCR 产物具备一定的离子强度，10× Buffer 加入量可适当减少至 2 µL。若下一步进行克隆等实验，酶切前需纯化 PCR 产物。

- 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 孵育 15 min（质粒），或 15~30 min（PCR 产物），或 30~60 min（基因组 DNA）。
- 4) 80°C 孵育 20 min 即可使酶失活，停止反应（可选）。

2. 双酶切或多酶切

- 1) 每种内切酶的用量为 1 µL，并根据需要适当扩大反应体系。
- 2) 所有内切酶的体积总和不得超过总反应体系的 1/10。
- 3) 如果选用的几种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，以较高的温度进行孵育。



3.质粒的扩大反应体系

组分	体积 (20 μL)	体积 (20 μL)	体积 (50 μL)
DNA	1 μg	2 μg	5 μg
NheI	1 μL	2 μL	5 μL
10×Buffer	2 μL	2 μL	5 μL
Total	20 μL	20 μL	50 μL

【注】：如果总反应体系大于 20 μL，可使用水浴、金属浴或沙浴，并增加孵育时间。

不同 DNA 中的识别位点数

λDNA	ΦX174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
1	0	1	0	0	0	0	4

甲基化修饰影响

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
无影响	无影响	序列可能重叠 剪切受阻	无影响	无影响

同裂酶

AsuNHI

【注】：同裂酶对于不同的甲基化修饰也许具有不同敏感性。

质量控制

- 功能活性检测**：最适反应温度下，在 20 μL 反应体系中，1 μL 酶能够在 15 min 内完全消化 1 μg λDNA(HindIII digest)。
- 超长时间孵育检测**：最适反应温度下，将 1 μL 酶与 1 μg λDNA(HindIII digest)共孵育 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，但延长孵育时间可能出现星号活性。
- 酶切-连接-再酶切检测**：最适反应温度下，使用 1 μL 酶消化底物，回收酶切产物，在 22°C 下使用适量 T4 DNA 连接酶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 1 μL 酶与 1 μg 超螺旋质粒 DNA 共同孵育 4 h 后，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 1 μL 酶消化，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。对于本公司系列限制酶而言，白色菌落比例应小于 1%。

注意事项

- 3 h 孵育未表现星号活性，延时酶切可能出现星号活性；
- 受 CpG 甲基化影响，序列可能重叠，剪切受阻；
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作；
- 本产品仅作科研用途！