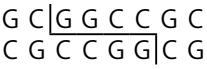
Not I



Code No. 1166A **Size : 500 U**
Conc. : 10 U/μl

Supplied Reagents :

10X H Buffer	**1 ml**
0.1% BSA	**1 ml**
0.1% Triton X-100	**1 ml**
10X Loading Buffer	**1 ml**

Storage Buffer :

10 mM	Tris-HCl, pH 7.5
100 mM	KCl
0.1 mM	EDTA
1 mM	DTT
0.15%	Triton X-100
0.01%	BSA
50%	Glycerol

Storage : -20℃

Source : *Escherichia coli* carrying the plasmid encoding *Not* I gene

General Reaction Mixture :

Not I	1 μl
10X H Buffer	2 μl
0.1% BSA	2 μl
0.1% Trion X-100	2 μl
Substrate DNA	≦ 1 μg
Sterile purified water	up to 20 μl

＊ Same activity is obtained except one of 0.1% BSA or 0.1% Triton X-100.

Reaction Temperature : 37℃

Unit definition :
One unit is defined as the amount of this enzyme required to digest completely 1 μg of pASf2-*Xba* I in 50 μl of the reaction mixture at 37℃ for 1 hr.

Quality Control Data:
Please see the Certificate of Analysis (CoA) for each lot. You can dowload the CoA on Takara Bio website.

Relative Activity in Takara Bio's Universal Buffers :

Universal Buffer	L	M	H	K	T (+BSA)
Relative Activity (%)	<20	20	**100**＊	(60)	(<20)

( ) : Weak star activity is detected.
＊ Relative activity of 100% is obtained by using H Buffer only, but the enzyme stability rises in reaction mixture by adding 0.01% BSA and 0.01% Triton X-100.

Ionic Effect on Activity in Basal Buffer :

Salt (mM)	0	20	50	80	100	150	200
NaCl (%)	<5	<5	10	40	60	60	20
KCl (%)	<5	<5	10	30	50	100	20

Composition of Basal Buffer :

10 mM	Tris-HCl, pH 7.5
7 mM	$MgCl_2$
150 mM	NaCl
1 mM	Dithiothreitol
0.01%	BSA
0.01%	Triton X-100

Number of Cleavage Sites in DNA :

λ	Ad2	SV 40	φ X 174	pBR 322	pUC 19	pUC 119	M13 mp18	Col E1
0	7	0	0	0	0	0	0	0

Effect of DNA methylation :
Enzyme activity is affected by CG methylase.

Star Activity :
Unrelated site may often be cut in the presence of DMSO or Mn^{2+}, and at high ionic strength.

Compositions of Universal Buffer (Stored at -20℃) :

1. 10X L	100 mM	Tris-HCl, pH7.5	4. 10X K	200 mM	Tris-HCl, pH8.5
	100 mM	$MgCl_2$		100 mM	$MgCl_2$
	10 mM	Dithiothreitol		10 mM	Dithiothreitol
2. 10X M	100 mM	Tris-HCl, pH7.5		1,000 mM	KCl
	100 mM	$MgCl_2$	5. 10X T	330 mM	Tris-Ac, pH7.9
	10 mM	Dithiothreitol	(BSA-free)	100 mM	Mg-Ac
	500 mM	NaCl		5 mM	Dithiothreitol
3. 10X H	500 mM	Tris-HCl, pH7.5		660 mM	K-Ac
	100 mM	$MgCl_2$	6. 0.1% BSA		
	10 mM	Dithiothreitol	7. 0.1% Triton X-100		
	1,000 mM	NaCl			

Compositions of 10X Loading Buffer (Stored at RT after used) :

0.9%	SDS
50%	Glycerol
0.05%	Bromophenol Blue

Add >1/10 volume of 10X Loading Buffer to stop enzyme reaction and load on agarose gel for electrophoresis. SDS may precipitate during storage at room temperature. If precipates are present, then dissolve in warm bath before use.

Note
This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.
Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from Takara Bio Inc.
If you require licenses for other use, please contact us by phone at +81 77 565 6973 or from our website at www.takara-bio.com.
Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements.
All trademarks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

v201807Da

Not I

G C|G G C C G C
C G C C G G|C G

Code No. 1166A **Size： 500 U**
濃度： 10 U/μl

添付試薬：

10 × H Buffer	**1 ml**
0.1% BSA	**1 ml**
0.1% Triton X-100	**1 ml**
10 × Loading Buffer	**1 ml**

● 形状

10 mM	Tris-HCl, pH7.5
100 mM	KCl
0.1 mM	EDTA
1 mM	DTT
0.15%	Triton X-100
0.01%	ウシ血清アルブミン
50%	グリセロール

● 保存 − 20℃

● 起源 *Escherichia coli* carrying the plasmid encoding *Not* I gene

● 一般的な反応液

Not I	1 μl
10 × H Buffer	2 μl
0.1% BSA	2 μl
0.1% Triton X-100	2 μl
基質 DNA	≦ 1 μg
滅菌精製水	up to 20 μl

※ Triton X-100 または BSA のどちらかを除いた場合でも同等の活性が確認されています。

● 反応温度 37℃

● 活性の定義
反応液 50 μl 中、37℃で 1 時間に 1 μg の pASf2-*Xba* I を完全に分解する酵素活性を 1 U とする。

● 品質管理
性能試験結果については、各ロットの Certificate of Analysis（CoA）をご覧ください。CoA はタカラバイオウェブサイトからダウンロードできます。

● Universal Buffer の相対活性

	L	M	H	K	T (+BSA)
相対活性（%）	<20	20	**100注**	(60)	(<20)

( ): スター活性が出現しやすい。
注: H Buffer のみでも 100% の相対活性が得られますが、0.01% BSA、0.01% Triton X-100 の添加で反応液中の酵素の安定性がより向上します。

● Basal Buffer での塩濃度の影響

塩濃度（mM）	0	20	50	80	100	150	200
相対活性 NaCl（%）	<5	<5	10	40	60	60	20
相対活性 KCl（%）	<5	<5	10	30	50	100	20

Basal Buffer 組成

10 mM	Tris-HCl, pH7.5
7 mM	$MgCl_2$
150 mM	NaCl
1 mM	DTT
0.01%	ウシ血清アルブミン
0.01%	Triton X-100

● 各種 DNA の切断数

		SV	φ X	pBR	pUC	pUC	M13	Col
λ	Ad2	40	174	322	19	119	mp18	E1
0	7	0	0	0	0	0	0	0

● メチル化の影響
CG methylase の影響を受ける。

● Star 活性
DMSO または Mn^{2+} 存在下、および高イオン強度下では認識配列がゆるむことがある。

● Universal Buffer 組成（−20℃保存）

1. 10×L	100 mM	Tris-HCl, pH7.5
	100 mM	$MgCl_2$
	10 mM	Dithiothreitol
2. 10×M	100 mM	Tris-HCl, pH7.5
	100 mM	$MgCl_2$
	10 mM	Dithiothreitol
	500 mM	NaCl
3. 10×H	500 mM	Tris-HCl, pH7.5
	100 mM	$MgCl_2$
	10 mM	Dithiothreitol
	1,000 mM	NaCl
4. 10×K	200 mM	Tris-HCl, pH8.5
	100 mM	$MgCl_2$
	10 mM	Dithiothreitol
	1,000 mM	KCl
5. 10×T (BSA-free)	330 mM	Tris-Ac, pH7.9
	100 mM	Mg-Ac
	5 mM	Dithiothreitol
	660 mM	K-Ac
6. 0.1% BSA		
7. 0.1% Triton X-100		

● 10 × Loading Buffer 組成（開封後、室温保存）

0.9%	SDS
50%	Glycerol
0.05%	Bromophenol Blue

反応液量の 1/10 量以上の 10×Loading Buffer を添加し、酵素反応を止め、アガロースゲルにアプライしてください。また、保存中に SDS が析出することがありますが、温浴で溶解してお使いください。

● 注意
本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
本データシートに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

v201807Da

タカラバイオ株式会社
ウェブサイト http://www.takara-bio.co.jp

製品についての技術的なお問い合わせ先
テクニカルサポートライン
Tel 077-565-6999
Fax 077-565-6995