

SspDI (KasI)

REF: EG24514S



同裂酶: KasI

异裂酶: DnlI, EgeI, EheI, Mly113I, NarI, PluTI, SfoI

注: 异裂酶会产生不同的末端, 同裂酶/异裂酶对于不同的甲基化修饰可能具有不同敏感性。

储存条件

-20°C保存 2 年

产品组成

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

产品简介

SspDI 属于常规限制酶系列, 可识别 G^ΔGCGCC 序列。不同于雷霆系列快速内切酶, SspDI 需要较长时间酶切以实现 DNA 底物的完全切割, 但该酶仍使用雷霆限制酶通用反应缓冲液 CutOne® Buffer, 可实现双酶切。

SspDI 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® 缓冲液;

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 pBR322 所需的酶量。

质量控制

超长时间温育检测

最适反应温度下, 将 10 U SspDI 与 1 μg pBR322 共同温育 16 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。

江苏愚公生物科技有限公司 / 江苏百时美生物科技有限公司
Yugong Biotech Co., Ltd. / BestEnzymes Biotech Co., Ltd
Tel: 0518-8558 6628 • E-mail:support@best-enzymes.com • www.best-enzymes.com

最终解释权所有 © 江苏愚公生物科技有限公司, 保留一切权利

酶切 - 连接 - 再酶切检测

最适反应温度下, 使用 10 U SspDI 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。

图标注释

37 最适反应温度为 37°C

CpG 对于被 CpG 甲基化的 DNA, 剪切可能受阻

80 失活条件为 80°C 温育 20 min

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 ₂ O	up to 50 μl
10× CutOne® Buffer 或 10× CutOne® Color Buffer	5 μl
底物 DNA ^a	1 μg
SspDI (10 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 SspDI 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 1~16 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
1	2	4	1	1	0	1	20

甲基化修饰影响

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
无影响	无影响	剪切受阻	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%	<12.5%	100%	<25%

注: 活性数据来自百时美限制酶标准反应体系下的检测。

