

BsmBI

REF: EG22507-V/S



同裂酶: Esp3I

注: 同裂酶对于不同的甲基化修饰可能具有不同敏感性。



储运条件

-20°C

产品组成

| 组分 | 规格 V | 规格 S |
|------------------|-------|--------|
| BsmBI (10 U/μl) | 20 μl | 100 μl |
| 10× Cut Buffer C | 1 ml | 1 ml |

产品简介

BsmBI 属于 Type IIs 型限制酶, 可识别非回文序列, 并在识别序列之外进行切割, 常用于 Golden Gate 组装。经过优化的反应 Buffer 使 BsmBI 最大限度发挥功能, 同时反应缓冲液包含重组白蛋白, 其可增强多种酶的稳定性。

建议反应条件

1× Cut Buffer C;

55°C 温育;

参照“DNA 酶切流程”配制反应体系。

本品在 37°C 进行酶切反应时, 有 50% 的活性。

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, 55°C 1 h 内完全酶切 1 μg λDNA 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 BsmBI 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

最适反应温度下, 使用 10 U BsmBI 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。

DNase 残留检测

将 10 U BsmBI 与双链 DNA 底物在 37°C 温育 16 h, 通过 DNA 电泳检测双链 DNA 底物无变化。

图标注释


 最适反应温度为 55°C

 反应温度 37°C 时, 活性 50%

 对于被 CpG 甲基化的 DNA, 剪切可能受阻

 对于被 EcoBI 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, 延时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 ₂ O | up to 50 μ l |
| 10 \times Cut Buffer C | 5 μ l |
| 底物 DNA ^a | 1 μ g |
| BsmBI (10 U/ μ l) | 1 μ l |
| Total | 50 μ l |

a. DNA 底物中应不含苯酚、氯仿、乙醇、EDTA、洗涤剂或高浓度盐，否则将会影响 BsmBI 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 55 $^{\circ}$ C 温育 15 min~1 h，一般推荐 5 U~10 U 酶/ μ g 质粒 DNA、10 U~20 U 酶/ μ g 基因组 DNA，温浴 1 h，如需过夜酶切反应，请将酶量调整至 1 U；

④ 80 $^{\circ}$ 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。

3. 小体积推荐加样体系

| | | |
|--------------------------|-------------------------|------------------|
| DNA | 0.1 μ g | 0.5 μ g |
| BsmBI (10 U/ μ l) | 1 U | 5 U |
| 10 \times Cut Buffer C | 1 μ l | 2.5 μ l |
| ddH ₂ O | up to 10 μ l | up to 25 μ l |
| Total | 10 μ l ^b | 25 μ l |

b. 为避免蒸发，10 μ l 反应体系的孵育时间不应超过 1 h。

不同 DNA 中的酶切位点数量

| λ DNA | Φ X174 | pBR322 | pUC57 | pUC18/19 | SV40 | M13mp18/19 | Adeno2 |
|---------------|-------------|--------|-------|----------|------|------------|--------|
| 14 | 0 | 1 | 2 | 2 | 0 | 1 | 21 |

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 | 剪切受影响 |