

# XbaI, GMP Grade

REF: GMP502S

5'...T<sup>▼</sup>C T A G A...3'  
3'...A G A T C T...5'  
▲

37 Dam 300 ★ 狗 GMP

## 储运条件

-20 ± 5°C 保存，有效期 24 个月。运输条件：≤ 0°C。

## 产品组成

组分	规格
XbaI, GMP Grade (20 U/μl)	1 ml
10× CutOne® Buffer, GMP Grade	6×1 ml

## 产品简介

XbaI, GMP Grade 由大肠杆菌重组表达获得，能够在 15 min~1 h 内精确完成目标 DNA 酶切。本品采用符合 GMP 规范的生产与质量管理体系，保证生产过程以及原辅料全程可追溯。整个生产过程不使用抗生素和任何动物来源的原料及辅料，对宿主蛋白、外源 DNA、非特异性内切酶、DNase、RNase 等工艺相关杂质，以及微生物限度、细菌内毒素等进行严格控制。本品满足疫苗与药物生产等领域对原辅料的要求。

## 活性定义

1 活性单位 (U) 指在 50 μl 反应体系中，37°C 1 h 内完全酶切 1 μg λDNA (Dam<sup>r</sup>/HindIII digest) 所需的酶量。

## 质量控制

### 蛋白纯度

经 SDS-PAGE 凝胶电泳检测，蛋白检测纯度不低于 95%。

### 超长时间温育 / 星号活性

37°C 下，在 50 μl CutOne® Buffer, GMP Grade 反应体系中将 20 U XbaI, GMP Grade 与 1 μg λDNA (Dam<sup>r</sup>/HindIII digest) 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。更长时间酶切可能出现星号活性。

### 非特异性内切酶活性

37°C 下，在 20 μl CutOne® Buffer, GMP Grade 反应体系中将 20 U XbaI, GMP Grade 与 200 ng 超螺旋质粒 DNA 共同温育 4 h 后，使用琼脂糖凝胶电泳检测，少于 20% 的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

### DNase 活性

37°C 下，在 20 μl CutOne® Buffer, GMP Grade 反应体系中将 20 U XbaI, GMP Grade 与 15 ng 双链 DNA 片段共同温育 16 h 后，使用琼脂糖凝胶电泳检测，双链 DNA 片段无变化。

### RNase 活性

37°C 下，在 10 μl CutOne® Buffer, GMP Grade 反应体系中将 20 U XbaI, GMP Grade 与 500 ng RNA 共同温育 1 h 后，使用琼脂糖凝胶电泳检测，不低于 90% 的 RNA 仍保持完整。

### 宿主 DNA 残留

采用中国药典 2020 版四部通则 3407 外源性 DNA 残留量测定法第三法定量 PCR 法，本品中大肠杆菌宿主细胞 DNA 残留量低于 10 拷贝 / 20 U。

### 宿主蛋白残留

采用中国药典 2020 版四部通则 3412 大肠埃希菌菌体蛋白质残留量测定法，本品中大肠杆菌菌体蛋白质残留量低于 50 ppm。

### 微生物限度检测

采用中国药典 2020 版四部通则 1105 非无菌产品微生物限度检查：微生物计数法，本品需氧菌总数 ≤ 5 cfu/ml，霉菌和酵母菌总数 ≤ 5 cfu/ml。

### 细菌内毒素残留

采用中国药典 2020 版四部通则 1143 细菌内毒素检查法第一法凝胶法，本品中细菌内毒素残留低于 10 EU/mg。

### 支原体检测

采用支原体检测试剂盒 (LAMP 法) 检测 20 U XbaI, GMP Grade，结果为阴性。

### 重金属残留

采用中国药典 2020 版四部通则 0821 重金属检查法第一法，本品重金属残留低于 10 ppm。

## 图标注释

-  37 最适反应温度为 37°C
-  Dam 对于被 Dam 甲基化的 DNA，剪切可能受阻
-  300 失活条件为 80°C 温育 20 min
-  ★ 按照建议反应条件未出现星号活性，更长时间孵育或提高限制酶终浓度可能出现星号活性
-  狗 不含动物源性相关组分
-  GMP 生产过程符合 GMP 规范

## 使用方法

① 在冰上按如下建议的加样顺序配制反应体系：

组分	加入量
ddH <sub>2</sub> O	up to 50 $\mu$ l
10 $\times$ CutOne <sup>®</sup> Buffer, GMP Grade	5 $\mu$ l
DNA <sup>a</sup>	1 $\mu$ g
XbaI, GMP Grade (20 U/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
Total	50 $\mu$ l

a. DNA 底物中应不含苯酚、氯仿、乙醇、EDTA、去垢剂或高浓度盐，否则将会影响 XbaI 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 $^{\circ}$ C 温育 15 min~1 h。
- ④ 80 $^{\circ}$ C 温育 20 min 使酶失活，停止反应。

## 注意事项

- ① 加入的酶体积不应超过总体积的 10%，避免酶储存液中过多的甘油引起星号活性。
- ② 酶储存缓冲液中的添加剂（例如甘油、盐）与底物溶液中的污染物（例如盐、EDTA、乙醇等）相同，因此反应体积越小，酶切反应抑制效应越强。

## 不同 DNA 中的酶切位点数量

$\lambda$ DNA	$\Phi$ X174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
1	0	0	1	1	0	1	5

## 甲基化修饰影响

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
剪切受阻	无影响	无影响	无影响	无影响