

SspDI (KasI)

REF: EG24514S



同裂酶: KasI, DnlI, EgeI, Ehel, Mly113I, NarI, PluTI, SfoI

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
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[▲]GCGCC 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。

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。

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

- 最适反应温度为 37°C
- 对于被 CpG 甲基化的 DNA，剪切可能受阻
- 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	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，否则将会影响 SspDI 酶活性；

- 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；
- 37°C 温育 1~16 h；
- 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

- 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；
- 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 CutSmart® 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。