

BspEI

REF: EG25528S



同裂酶: Kpn2I, Mrol, AccIII, Aor13HI, Bsp13I, BseAI

注: 同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
BspEI (10 U/μl)	50 μl
10× Cut Buffer C	1 ml

产品简介

BspEI 属于 Type IIP 型限制酶，来源于芽孢杆菌属 (*Bacillus*)，经大肠杆菌重组表达纯化后获得。BspEI 识别并切割 TCCGGA 序列，产生 5' 突出的 4 碱基粘性末端。BspEI 使用专用缓冲液 Cut Buffer C，不兼容通用缓冲液 Cutone® Buffer。

建议反应条件

1× Cut Buffer C;

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 λDNA (Dam⁻) 所需的酶量。

质量控制

功能活性检测

37°C 下，10 U BspEI 能够在 15 min 内完全消化 1 μg λDNA (Dam⁻)。

超长时间温育检测

37°C 下，将 10 U BspEI 与 1 μg λDNA (Dam⁻) 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

37°C 下，使用 10 U BspEI 消化底物，回收酶切产物。在 22°C 下使用适量 T4 DNA Ligase (Fast) 可以将超过 95% 的酶切产物重新连接。将连接产物再次回收后，使用相同的内切酶可以重新切开约 95% 以上的连接产物。

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

[CpG] 对于被 CpG 甲基化的 DNA，剪切可能受阻

[失活] 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 μl
10× Cut Buffer C	5 μl
底物 DNA ^a	1 μg
BspEI (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 BspEI 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 15 min~3 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
24	0	1	0	0	0	0	8

甲基化修饰影响

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
剪切受阻	无影响	剪切受影响	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 < 10%	50%	< 10%	50%

注：活性数据来自百时美限制酶标准反应体系下的检测。

