BsmBI 内切酶

货号：F2507S

存储条件：-20℃



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。

产品组份

组分	规格
BsmBI (10 U/μl)	100 μl
10× Cut Buffer C	1 ml

产品说明

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 缓冲液；55℃温育；参照“DNA 酶切流程”配制反应体系。

失活条件：80℃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℃ 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℃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℃温育 16 h，通过 DNA 电泳检测双链 DNA 底物无变化。

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：

ddH2O	up to 50 μl
10× Cut Buffer C	5 μl
底物 DNA[a]	1 μg
BsmBI (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 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℃温育 15 min~1 h，一般推荐 0.5ul-1ul 酶/μg 质粒 DNA、1-2ul 酶/μg 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℃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 μg	0.5 μg
BsmBI (10 U/μl)	1U	5U
10× Cut Buffer C	1ul	2.5ul
ddH2O	up to 10 μl	up to 25 μl
Total	10ul	25ul

注：为避免蒸发，10 μl 反应体系的孵育时间不应超过 1h。

不同 DNA 中的酶切位点数量

λDNA	ΦX174	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