

SspDI (KasI)内切酶

货号: F4514S

储存条件: -20°C

5'...G[▼]G C G C C...3'
3'...C C G C G[▲]G...5'

同裂酶: KasI, DnlI, EgeI, EheI, Mly113I, NarI, PluII, SfoI; 注: 同裂酶对于不同的甲基化修饰可能具有不同敏感性。

产品组成

组分	规格
SspDI (KasI) (10U/μl)	25 μl
10× LabFD Buffer	1 ml
10× LabFD 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 LabFD 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 LabFD 限制酶通用反应缓冲液 LabFD Buffer, 可实现双酶切。

建议反应条件

1×LabFD buffer; 37°C温育; 参照 “DNA 快速酶切流程” 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 λDNA 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。





使用方法

1. DNA 快速酶切流程

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 50ul
10×LabFD Buffer	5ul
底物 DNA ^a	1ug
SspDI (10U/ul)	1ul
Total	50ul

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;

- 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 1 h~6 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
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

	LabFD™ Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB rCutSmart® Buffer	Takara QuickCut™ Buffer
活性	100%	< 12.5%	100%	< 25%

注: 活性数据来自 LABLEAD 限制酶标准反应体系下的检测。

