



## BsrDI

**产品货号:** F7506S

**储存条件:** -20°C

5'...G C A A T G N N...3'  
3'...C G T T A C N N...5'

同裂酶: Bse3DI, BseMI (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
BsrDI (10U/ul)	25ul
10×Cut Buffer B	1ml

### 产品简介

BsrDI来源于Bacillus stearothermophilus D70, 由大小两个亚基组成, 属于异二聚体酶。BsrDI识别特定序列GCAATG/CATTGC, 切割顶链时在识别位点下游2个核苷酸处, 底链则在识别位点后直接切割, 产生特定的黏性末端, 属于Type IIS 型限制酶, 可用于Golden gate组装。

**建议反应条件:** 1×Cut buffer B; 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 λDNA 所需的酶量。

### 质量控制

#### 功能活性检测

37°C下, 在 20ul 反应体系中, 10U BsrDI 能够在 15min 内完全消化 1ug λDNA。

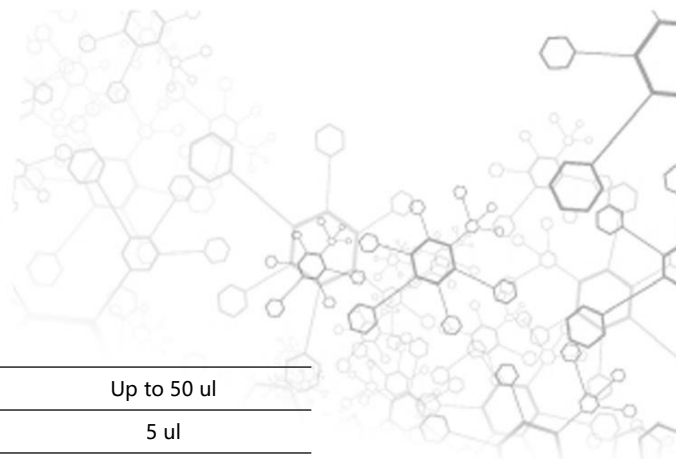
#### 超长时间温育检测

37°C下, 将 10U BsrDI 与1ug λDNA 共同温育 3h, 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 BsrDI 消化 DNA 底物, 回收酶切产物, 在 22°C下使用 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 <sub>2</sub> O	Up to 50 ul
10×Cut Buffer B	5 ul
底物 DNA <sup>a</sup>	1 ug
BsrDI (10U/ul)	1 ul
Total	50 ul

a. 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BsrDI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 15min~60min；

(4) 80°C温育 20 min 即可使酶失活，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 BsrDI可在CutOne Buffer中使用，但星号活性明显强于在Cut Buffer B中反应。若要使用Cutone Buffer进行反应，不建议酶切时间超过3 h或者超过 2 U的 BsrDI/μg DNA 底物。

### 不同 DNA 中的酶切位点数量

λDNA	ΦX174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
44	4	2	2	2	4	3	14

### 甲基化修饰影响

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

### 在不同反应缓冲液中的活性

	LabFD™ Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB CutSmart®Buffer	Takara QuickCut™Buffer
活性	50%	100%	50%	100%

注：活性数据来自 LABLEAD 限制酶标准反应体系下的检测。

