



## SgrAI

产品货号: F7513S

储存条件: -20°C



### 产品组成

组分	规格
SgrAI (10U/ul)	50ul
10×Cut Buffer B	1ml

### 产品简介

SgrAI 来源于灰色链霉菌(*Streptomyces griseus*), 经大肠杆菌重组表达后纯化获得, 特异性识别并切割CR/CCGGYG 序列。SgrAI 属于非快切系列限制酶, 但可兼容LabFD 缓冲液, 可用于和其他 LabFD 系列限制酶进行双酶切。基于酶的特殊性SgrAI 需要两个及以上的酶切位点才能实现高效切割, 对单位点的底物切割效率显著下降。

**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 SgrAI 能够在 15min 内完全消化 1ug λDNA。

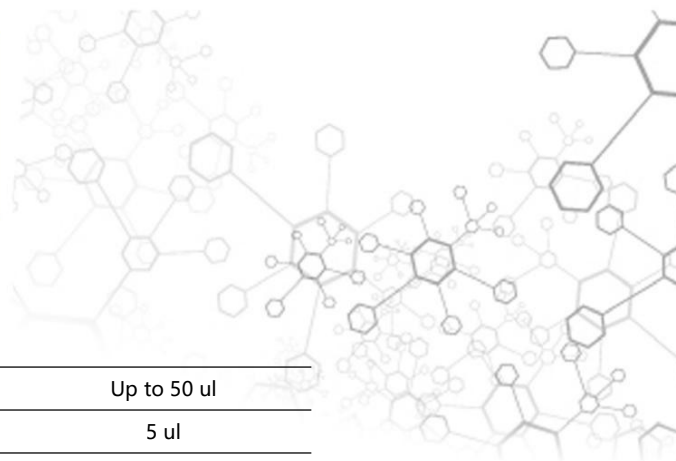
#### 超长时间温育检测

37°C下, 将 10U SgrAI 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 SgrAI 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
SgrAI (10U/ul)	1 ul
Total	50 ul

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SgrAI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酶切需要两个或两个以上识别位点。

②每 μg DNA 底物使用的酶量不建议超过 10 U。

③因为反应中酶的稳定性，即使温育时间超过1h也不会提高酶切效率，除非增加酶量。

④延长酶切时间、高浓度酶或>5% 的甘油浓度可能产生星号活性,尤其不建议过夜酶切。

### 不同 DNA 中的酶切位点数量

λDNA	ΦX174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
6	0	1	0	0	0	0	6

### 甲基化修饰影响

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
无影响	无影响	剪切受影响	剪切受阻	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%	< 12.5%	50%	< 12.5%

注：活性数据来自 LABLEAD 限制酶标准反应体系下的检测。

