

Esp3I(BsmBI), ADCF

产品编号	产品名称	包装规格
NBS8231	Esp3I(BsmBI), ADCF	2000 U (10 U/μl)

产品简介:

Esp3I(BsmBI), ADCF 经过基因工程重组, 能够在 15 min~1 h 内精确完成质粒 DNA、PCR 产物或基因组 DNA 等的酶切。

本品的发酵重组表达、纯化、制剂等各个环节, 都不使用包含动物来源的成分, 也未使用抗生素。

识别位点:

CGTCTC(1/5)

5'...C G T C T C (N)₁↓...3'

3'...G C A G A G (N)₅↑...5'

同裂酶: BsmBI

注: 同裂酶对于不同的甲基化修饰也许具有不同敏感性。

注: ADCF(animal derived component free), 不含动物源性相关组分。

产品组成:

组分	规格
Esp3I(BsmBI), ADCF	2000 U (10 U/μl)
10× Esp3I Buffer	4×1.25 ml

保存条件:

-20℃保存, 2 年有效。

特性和用法:

- 生产全程无动物源性成分

- 质量标准更高，严格控制宿主残留
- 满足疫苗生产要求

失活条件：

80°C温育 20 min。

甲基化敏感性：

对于被 CpG 甲基化的 DNA，剪切可能受阻。

活性定义：

1 活性单位 (U) 是指在 50 μ l 反应体系中，37°C 1 h 内完全酶切 1 μ g λ DNA 所需的酶量。

蛋白纯度检测：

本品经 SDS-PAGE 检测纯度 $\geq 95\%$ 。

DNase 残留检测：

将 50 U 酶液与双链 DNA 底物在 37°C温育 16 h，通过 DNA 电泳检测双链 DNA 底物无变化。

RNase 残留检测：

将 50 U 酶液与 RNA 在 37°C温育 1 h，通过电泳检测 RNA 无降解。

酶切 - 连接 - 再酶切检测：

最适反应温度下，将 50 U 酶液消化底物，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。

宿主 DNA 残留检测：

将酶液中残留的核酸经 E.coli 16S rDNA 特异性的 TaqMan qPCR 检测，E.coli 基因组残留低于 10 pg。

宿主蛋白残留检测：

本品经 ELISA 法检测 E.coli 宿主蛋白含量 ≤ 50 ppm。

微生物限度检测：

本品经微生物计数法检测，需氧菌总数 ≤ 5 cfu/ml，霉菌和酵母菌总数 ≤ 5 cfu/ml。

细菌内毒素残留检测：

本品细菌内毒素残留 < 1 EU/KU

使用方法：

① 在冰上按如下建议的加样顺序配制反应体系：

组分	加入量
ddH ₂ O	up to 50 μ l
10 \times Esp3I Buffer	5 μ l
底物 DNA ^a	1 μ g
Esp3I(BsmBI), ADCF	5~10 U
Total	50 μ l

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 Esp3I, ADCF 酶活性；甲基化的 DNA 会抑制某些限制性内切酶酶切反应。

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 $^{\circ}$ C 温育 15 min~1 h，一般推荐 5 U~10 U 酶/ μ g DNA、10 U~20 U 酶/ μ g 基因组 DNA，温浴 1 h，如需过夜酶切反应，请将酶量调整至 2.5 U；

④ 80 $^{\circ}$ 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；

⑤ 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；

⑥ 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；

⑦ 小体系推荐加样体系：

DNA	0.1 μ g	0.5 μ g
Esp3I(BsmBI), ADCF	1 U	5 U

10× Esp3I Buffer	1 μl	2.5 μl
Total	10 μl ^b	25 μl

b. 为避免蒸发，10 μl 反应体系的孵育时间不应超过 1 h。

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	剪切受影响	无影响	无影响

注意事项：

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其它用途！