

SgrAI

产品编号	产品名称	包装规格
NBS8227	SgrAI	500 U

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 FastCut 系列限制酶, 但可兼容 FastCut 缓冲液, 可用于和其他 FastCut 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。

识别位点:

CRCCGGYG

5'...C R↓C C G G Y G...3'

3'...G Y G G C C↑R C...5'

产品组成:

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

保存条件:

-20℃保存, 2 年有效。

建议反应条件:

1× Cut Buffer B;

37℃温育;

参照“DNA 酶切流程”配制反应体系。

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。

对于被 EcoKI 甲基化的 DNA, 剪切可能受阻。

对于被 EcoBI 甲基化的 DNA, 剪切可能受阻。

活性定义:

1 活性单位 (U) 是指在激活剂存在下, 50 µl 反应体系中, 37°C 1 h 内完全酶切 1 µg λDNA 所需的酶量。

功能活性检测:

37°C下, 10 U SgrAI 能够在 15 min 内完全消化 1 µg λDNA。

超长时间温育检测:

37°C下, 将 10 U SgrAI 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:

37°C下, 使用 10 U SgrAI 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 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 50µl
10× Cut Buffer B	5µl
底物 DNA ^a	1µg
SgrAI (10 U/µl)	1µl

Total

50μl

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 15 min~1 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。

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

	FastCut Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB rCutSmart™ Buffer	Takara QuickCut™ Buffer
活性	50%	< 12.5%	50%	< 12.5%

注：活性数据来自限制酶标准反应体系下的检测。

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 1 h 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。
5. 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商业用途！

相关常规限制性内切酶产品：

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NBS8216</u>	<u>AarI</u>	100 U
<u>NBS8217</u>	<u>ApeKI</u>	500 U
<u>NBS8218</u>	<u>BbvCI</u>	50 U
<u>NBS8219</u>	<u>BpiI</u>	250 U
<u>NBS8220</u>	<u>BsiWI</u>	300 U
<u>NBS8221</u>	<u>BsmBI</u>	200 U
<u>NBS8222</u>	<u>BspQI</u>	500 U
<u>NBS8223</u>	<u>BsrDI</u>	250 U
<u>NBS8224</u>	<u>BstXI</u>	500 U
<u>NBS8225</u>	<u>PciI</u>	200 U
<u>NBS8226</u>	<u>SgeI</u>	250 U
<u>NBS8227</u>	<u>SgrAI</u>	500 U
<u>NBS8228</u>	<u>SspDI (KasI)</u>	250 U
<u>NBS8229</u>	<u>Swal</u>	1000 U
<u>NBS8230</u>	<u>XmnI</u>	500 U