

SspDI (KasI)

产品编号	产品名称	包装规格
NBS8228	SspDI (KasI)	250 U

产品简介:

SspDI 属于常规限制酶系列, 可识别 G[^]GCGCC 序列。不同于雷霆系列快速内切酶, SspDI 需要较长时间酶切以实现 DNA 底物的完全切割, 但该酶仍使用雷霆限制酶通用反应缓冲液 FastCut Buffer, 可实现双酶切。

识别位点:

GGCGCC

5'...G ↓ G C G C C...3'

3'...C C G C G ↑ G...5'

同裂酶: KasI

异裂酶: DnlI, EgeI, EheI, Mly113I, NarI, PluTI, 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 (10 U/μl)	25 μl
10× FastCut Buffer	1 ml
10× FastCut Color Buffer	1 ml

保存条件:

-20℃保存, 2 年有效。

建议反应条件:

1× FastCut 缓冲液;

37°C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。

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。

超长时间温育检测:

最适反应温度下, 将 10 U SspDI 与 1 µg pBR322 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 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× FastCut Buffer 或 10× FastCut Color Buffer	5µl
底物 DNA ^a	1µg
SspDI (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 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 1~16 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
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

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

注: 活性数据来自限制酶标准反应体系下的检测。

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. 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他用途!

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