

## BspEI

REF: EG25528S



同裂酶: Kpn2I, MroI, AccIII, Aor13HI, Bsp13I, BseAI

注: 同裂酶对于不同的甲基化修饰可能具有不同敏感性。



### 储存条件

-20°C 保存 2 年

### 产品组成

组分	规格
BspEI (10 U/μl)	50 μl
10× Cut Buffer C	1 ml

### 产品简介

BspEI 属于 Type IIP 型限制酶, 来源于芽孢杆菌属 (*Bacillus*), 经大肠杆菌重组表达纯化后获得。BspEI 识别并切割 TCCGGA 序列, 产生 5' 突出的 4 碱基粘性末端。BspEI 使用专用缓冲液 Cut Buffer C, 不兼容通用缓冲液 Cutone® Buffer。

### 建议反应条件

1× Cut Buffer C;  
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。

### 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 (Dam<sup>-</sup>) 所需的酶量。

### 质量控制

#### 功能活性检测

37°C 下, 10 U BspEI 能够在 15 min 内完全消化 1 μg λDNA (Dam<sup>-</sup>)。

#### 超长时间温育检测

37°C 下, 将 10 U BspEI 与 1 μg λDNA (Dam<sup>-</sup>) 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 BspEI 消化底物, 回收酶切产物。在 22°C 下使用适量 T4 DNA Ligase (Fast) 可以将超过 95% 的酶切产物重新连接。将连接产物再次回收后, 使用相同的内切酶可以重新切开约 95% 以上的连接产物。

### 图标注释

- 最适反应温度为 37°C
- 对于被 Dam 甲基化的 DNA, 剪切可能受阻
- 对于被 CpG 甲基化的 DNA, 剪切可能受阻
- 失活条件为 80°C 温育 20 min
- 3 h 温育未表现星号活性, 延时酶切可能出现星号活性

### 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 <sub>2</sub> O	up to 50 μl
10× Cut Buffer C	5 μl
底物 DNA <sup>a</sup>	1 μg
BspEI (10 U/μl)	1 μl
Total	50 μl

- a. DNA 底物中应不含苯酚、氯仿、乙醇、EDTA、洗涤剂或高浓度盐, 否则会影响 BspEI 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~3 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。

#### 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。

### 不同 DNA 中的酶切位点数量

λDNA	ΦX174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
24	0	1	0	0	0	0	8

### 甲基化修饰影响

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

### 在不同反应缓冲液中的活性

	CutOne® Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB rCutSmart™ Buffer	Takara QuickCut™ Buffer
活性	< 10%	50%	< 10%	50%

注: 活性数据来自百时美限制酶标准反应体系下的检测。