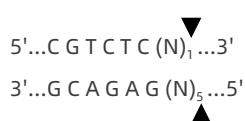


产品组分

组分名称	组分编号	规格-1	规格-2
		200 U	1,000 U
BsmBI (10,000 U/mL)	RM21673	20 μ L	100 μ L
10X BsmBI Buffer	RM20111	1 mL	1 mL

产品说明

识别位点



活性定义

1 活性单位 (U) 是指在 50 μ L 反应体系中, 55°C 1 hr 内完全酶切 1 μ g λ DNA 所需的酶量。

保存温度

-20°C

酶切反应条件

1X BsmBI Buffer, 55°C 温育

热失活

80°C 温育 20 min

操作说明

1. 推荐反应体系 (以 50 μ L 体系为例)

1.1 在冰上按照下面表格中的建议顺序配制反应体系, 最后加入内切酶。

组分	加入量
Nuclease-free water	Up to 50 μ L
10X BsmBI Buffer	5 μ L
底物 DNA	1 μ g
BsmBI*	1 μ L

* 注: 推荐 5 - 10 U BsmBI / μ g 质粒 DNA、10 - 20 U BsmBI / μ g 基因组 DNA。

1.2 通过移液器上下吹打或者轻弹反应管混匀, 然后在微型离心机中短暂离心。切勿旋涡混匀。

1.3 55°C 孵育 1 小时。如需过夜酶切反应, 请将酶量调整至 1U。

1.4 80°C 温育 20 min 终止反应, 或者通过吸附柱或苯酚/氯仿纯化终止反应。

注意事项

1. 酶

1.1 从冰箱拿出后请一直置于冰上, 使用完毕后宜立即放置于 -20°C 保存。

1.2 在反应体系中最后加入酶组分。

2. DNA

2.1 DNA 底物中应不含苯酚、氯仿、乙醇、EDTA、洗涤剂或高浓度盐, 影响酶切活性, 推荐若底物为 PCR 扩增产物, 建议纯化后进行酶切。

2.2 甲基化的 DNA 会抑制某些限制性内切酶酶切反应。

2.3 甲基化修饰影响

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
		序列完全重		序列可能重
无影响	无影响	叠, 剪切阻	无影响	叠, 剪切可
		断		能受影响

2.4 不同 DNA 中的酶切位点数量

DNA 种类	pUC57	pUC18/19	pBR322	λ DNA
酶切位点数量	2	2	1	14

3. 反应缓冲液

3.1 使用浓度: 1X。

3.2 推荐使用 BsmBI Buffer 缓冲液。

4. 反应体积

- 4.1 推荐在 50 μL 反应体系下, 酶切 1 μg DNA 底物。
- 4.2 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。
- 4.3 限制性内切酶存储缓冲液中的添加剂(例如甘油、盐)与底物 DNA 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。

推荐的反应体积及酶量

反应体积	酶量*	DNA	10X BsmBI Buffer
10 μL **	1 U	0.1 μg	1 μL
25 μL	5 U	0.5 μg	2.5 μL
50 μL	10 U	1 μg	5 μL

* 注: 对于小体积反应体系, 限制性内切酶应稀释后加入反应体系。

** 注: 为避免蒸发, 10 μL 反应体系的孵育时间不应超过 1 hr。

5. 孵育时间

- 5.1 孵育时间推荐 1 hr。
- 5.2 使用过量的酶或者快切酶需要减少孵育时间。

6. 一步法连接反应推荐

● 构建体系

组分	加入量
Nuclease-free water	to 20 μL
插入片段*	0.1 pmol
载体	0.05 pmol
10x T4 DNA ligase Reaction buffer	2 μL
T4 DNA Ligase (High Conc.) (RK21500)	1 μL
BsmBI	1 μL

* 注: 当存在多个插入片段时, 每个片段都投入 0.1 pmol。

● 单片段构建程序

温度	时间	循环
42°C	10 min	1
60°C	5 min	1

● 多片段构建程序

温度	时间	循环
42°C	1 min	30
16°C	1 min	
60°C	5 min	1

7. 对照实验

如果酶切 DNA 底物时遇到困难, 推荐设置对照实验:

- 对照 DNA 底物: 选择含有限制酶识别位点的对照 DNA 底物 (一般使用含多个限制酶识别位点的 DNA, 例如 λ 或 PUC19 质粒 DNA)。
- 如果对照 DNA 能够被切开, 而实验 DNA 酶切障碍。对于这种情况, 可以将这两种 DNA 混合后进行酶切反应。如果实验 DNA 中含有酶切反应抑制物 (例如高浓度盐、EDTA 或苯酚等), 对照 DNA 也将不会被切开。