

## BsmBI

产品编号	产品名称	包装规格
NBS8221	BsmBI	200 U

### 产品简介：

BsmBI 属于 Type IIs 型限制酶，可识别非回文序列，并在识别序列之外进行切割，常用于 Golden Gate 组装。经过优化的反应 Buffer 使 BsmBI 最大限度发挥功能，同时反应缓冲液包含重组白蛋白，其可增强多种酶的稳定性。

### 识别位点：

CGTCTC(1/5)

5'...C G T C T C (N)<sub>1</sub>↓...3'

3'...G C A G A G (N)<sub>5</sub>↑...5'

同裂酶：Esp3I

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
BsmBI (10 U/μl)	20 μl
10× Cut Buffer C	1 ml

### 保存条件：

-20°C保存，2年有效。

### 建议反应条件：

1× Cut Buffer C;

55°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;

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 50 μl 反应体系中, 55°C 1 h 内完全酶切 1 μg λDNA 所需的酶量。

**超长时间温育检测:**

最适反应温度下, 将 10 U BsmBI 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:**

最适反应温度下, 使用 10 U BsmBI 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。

**DNase 残留检测:**

将 10 U BsmBI 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。

**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 50μl
10× Cut Buffer C	5μl
底物 DNA <sup>a</sup>	1μg
BsmBI (10 U/μl)	1μl

Total	50 $\mu$ 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 BsmBI 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 55°C温育 15 min~1 h，一般推荐 5 U~10 U 酶/ $\mu$ g 质粒 DNA、10 U~20 U 酶/ $\mu$ g 基因组 DNA，温浴 1 h，如需过夜酶切反应，请将酶量调整至 1 U；	
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。	

### 小体积推荐加样体系：

DNA	0.1 $\mu$ g	0.5 $\mu$ g
BsmBI (10 U/ $\mu$ l)	1 U	5 U
10× Cut Buffer C	1 $\mu$ l	2.5 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O	up to 10 $\mu$ l	up to 25 $\mu$ l
Total	10 $\mu$ l <sup>b</sup>	25 $\mu$ l

b. 为避免蒸发，10  $\mu$ l 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

$\lambda$ DNA	$\Phi$ X174	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	剪切受阻	无影响	剪切受影响

### 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。

**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>BpI</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