

SgeI

产品编号	产品名称	包装
D6619S	SgeI	250U
D6619M	SgeI	1kU
D6619L	SgeI	5kU

产品简介:

- 碧云天自主研发生产的SgeI, 是从大肠杆菌表达纯化获得的一种修饰依赖型限制性内切酶, 其基本信息如下:

识别序列[1]	缓冲液兼容性(%)							酶切温度	失活条件	甲基化干扰?
5'-m ⁵ CNNG(N) ₉ -3'	1X SgeI	1X B	1X G	1X O	1X R	1X Y	2X Y	37°C	65°C 20min	有时有干扰
3'-GNNC(N) ₁₃ -5'	100	0-20	0-20	0-20	NR*	NR*	NR*			

* , Star activity, 当酶量3倍或以上过量时会产生星号活性, 即产生非特异性酶活性。

NR, 不推荐使用这种缓冲液, 会产生很高的星号活性。

- SgeI可切割在单链或双链DNA上含有5-甲基胞嘧啶的DNA靶标。SgeI限制性内切酶可识别m⁵CNNG(9/13)[^]位点, 并于37°C下在其独特的缓冲液中的切割效果最佳。为确保一致的性能, 该酶稀释液中包含预混合BSA, 其可增强酶的稳定性, 并与DNA制剂中可能存在的污染物相结合。
- 碧云天生产的SgeI酶切DNA双链的效果请参考图1。

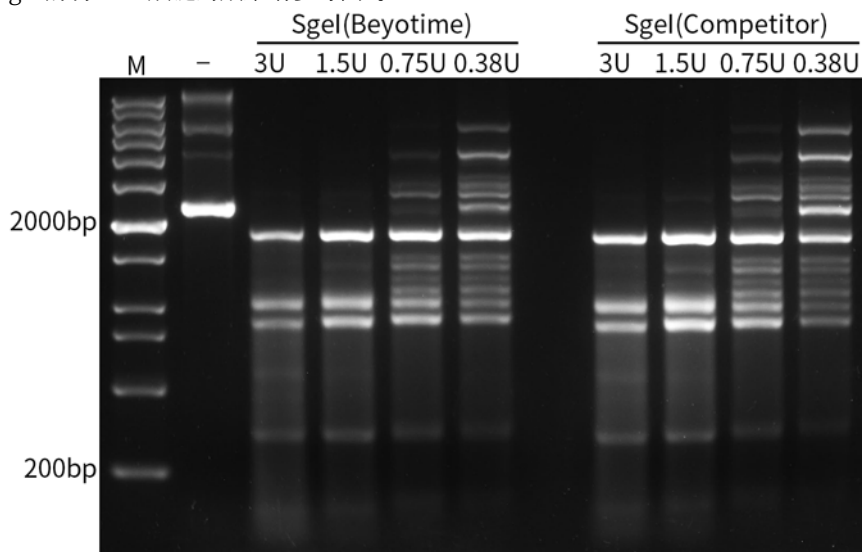


图1. 碧云天生产的SgeI (D6619)和国外同类产品(Competitor)的酶活性检测效果对比图。使用本产品或国外T公司的SgeI, 在20 μ l反应体系中加入图中指定量的本产品或国外T公司的SgeI, 在1X SgeI Buffer中酶切400ng含6个SgeI位点的pBR322质粒(D2301) (Dcm⁺), 37°C孵育1小时进行酶切反应, 酶切产物为多个长度不相等的DNA片段, 随后65°C孵育20分钟进行失活, 然后电泳并进行核酸染色和荧光成像分析。如图所示, 本产品与T公司的产品相比, 具有类似的酶切效果。M, DNA marker (DNA Ladder (0.2-12 kb, 12 bands) (D0110))。实际检测效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- 酶储存液组成为: 10mM Tris-HCl (pH7.4 at 25°C), 100mM NaCl, 1mM DTT, 1mM EDTA, 50% Glycerol.
- 酶稀释液组成为: 10mM Tris-HCl (pH7.4 at 25°C), 100mM KCl, 1mM DTT, 1mM EDTA, 0.2mg/ml BSA, 50% Glycerol.
- 1X SgeI Buffer组成为: 10mM Tris-HCl (pH8.0 at 25°C), 5mM MgCl₂, 100mM KCl, 0.02% Triton X-100, 0.1mg/ml BSA.
- 酶性单位定义: One unit is defined as the amount of SgeI required to digest 1 μ g of pBR322 DNA isolated from *E.coli* Dcm⁺ strain in 1 hour at 37°C in a total reaction volume of 50 μ l.
- 质量控制: (1) 核酸内切酶残留检测: 将3U SgeI与超螺旋质粒DNA在37°C温育4h, 通过DNA电泳检测质粒无变化。(2) 核酸外切酶残留检测: 将3U SgeI与双链DNA底物在37°C温育1h, 通过DNA电泳检测双链DNA底物无变化。
- SgeI内切酶识别位点的甲基化影响请参考下表:

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
无影响	总是切割被Dcm甲基转移酶甲基化的DNA	切割与CpG甲基化序列重叠的靶点	无影响	无影响

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D6619S-1	SgeI (3U/μl)	85μl
D6619S-2	10X SgeI Buffer	340μl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6619M-1	SgeI (3U/μl)	335μl
D6619M-2	10X SgeI Buffer	1.34ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6619L-1	SgeI (3U/μl)	1.67ml
D6619L-2	10X SgeI Buffer	6.68ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存, 至少两年有效。

注意事项:

- 内切酶使用时宜存放在冰盒内或冰浴上, 使用完毕后宜立即放置于-20°C保存。
- 底物至少需要2个SgeI识别序列才能有效酶切。
- 甲基化DNA完全酶切取决于SgeI的识别位点的数量, 另外由于识别位点酶切产生的DNA产物会促进SgeI的非特异性酶切, 因此, 建议酶切时优化SgeI酶量用于酶切反应。
- 长时间酶切不稳定, 具有星形活性, 建议酶切时优化SgeI酶切时间。
- 不含核酸酶的超纯水推荐选购碧云天的BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile) (ST876)。
- 如果发现预期的酶切位点不能切开, 请确认是否存在甲基化干扰问题。
- 同裂酶对于不同的甲基化修饰可能具有不同敏感性, 遇到可能存在甲基化干扰问题时, 可以尝试同裂酶。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 单酶切时可以参考如下反应体系, 在冰浴上进行操作。

Reagent	Plasmid DNA
Ultrapure Water	to 20μl
10X SgeI Buffer	2μl
Substrate DNA	xμl (up to 0.5-2μg)
SgeI	0.2-1μl
Total volume	20μl
Incubate at 37°C for 1h	

注: 反应体系可以按比例放大或缩小。反应时间不建议超过1h。

- a. 参考上表依次加入各种液体后, 用移液器轻柔拍打或轻弹管壁以混匀(切勿涡旋混合), 然后瞬时离心以沉降液体至管底。
 - b. 37°C温育1h。酶切反应时优先推荐使用水浴, 反应温度通常更加恒定一些。
 - c. 65°C温育20min即可使酶失活并停止反应(可选)。
2. 双或多酶切时可以在参考上表单酶切反应体系设置的基础上, 参考如下原则设置反应体系。
 - a. 每种内切酶的用量为1μl, 并根据需要适当扩大反应体系;
 - b. 所有内切酶的体积总和不得超过总反应体系的1/10;
 - c. 如果所用的几种内切酶的最适反应温度不同, 应先从最适温度低的酶开始酶切, 再添加最适温度较高的酶, 在其最适反应温度下进行酶切反应。

参考文献:

1. Loenen WA, Raleigh EA. Nucleic Acids Res. 2014. 42(1):56-69.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D6049	ApaI	2000U
D6050	AscI	400U/2kU/10kU/50kU
D6052	AvrII	200U/1kU/5kU
D6053	BamHI	2000U
D6055	BamHI	10/40/200/800kU
D6093	BglII	500U
D6095	BglII	2/10/40/200kU
D6128	BsaI	1/5/20/200kU
D6132	BspQI	400U/2kU/10kU/40kU
D6133	Nt.BspQI	500U/2kU/10kU
D6176	Cfr9I	2/10/40kU
D6257	DpnI	500U/2.5KU/10KU/50KU
D6266	DpnII	500U/2kU/10kU
D6272	DraI	4/20/100kU
D6292	EarI	400U/2kU/10kU/40kU
D6329	EcoRI	2000U
D6330	EcoRI	5000U
D6333	EcoRI	10/40/200/800kU
D6337	EcoRV	1500U
D6339	EcoRV	4/20/100/400kU
D6369	HhaI	1/5/20/100kU
D6389	HindIII	2000U
D6390	HindIII	5000U
D6392	HindIII	10/40/200/1000kU
D6403	HpaII	1/5/20kU
D6417	KpnI	1000U
D6418	KpnI	4/20kU
D6436	MboI	200U/1kU/5kU
D6449	MluI	1000U
D6468	MseI	400U/2kU/10kU/40kU
D6470	MspI	4/20/100/500kU
D6472	MspJI	200U/1kU/5kU
D6481	NcoI	200U
D6482	NcoI	800U/4kU/20kU/100kU
D6485	NdeI	400U
D6486	NdeI	4/20/100kU
D6489	NheI	200U
D6490	NheI	800U/4kU/20kU/100kU
D6497	NotI	150U
D6498	NotI	1/4/20/100kU
D6538	PleI	500U/2Ku/10kU
D6542	PmeI	800U/4kU/20kU/100kU
D6565	PstI	1000U
D6566	PstI	3000U
D6568	PstI	4/20/100kU
D6581	PvuII	1000U
D6585	RsaI	200U
D6590	SapI	400U/2kU/10kU/40kU
D6593	SacI	500U
D6597	SalI	1000U

D6598	SalI	2/10/40/200kU
D6607	ScaI	2/10/40/200kU
D6619	SgeI	250U/1Ku/5kU
D6633	SmaI	500U
D6635	SmaI	2/10/40/200kU
D6652	SphI	500U/2Ku/10kU
D6713	XbaI	1500U
D6715	XbaI	10/40/200kU
D6718	XcmI	1/4/20/100kU
D6721	XhoI	2000U
D6723	XhoI	2/10/40/200kU
D6730	XmaI	2/10/40kU
D6847-50μl	SgeI	50μl

Version 2024.07.10