

Spe I

Code No. **SPE-10***

Lot No. *********

Size

:

200 units(SPE-101)

Source

:

Sphaerotilus natans ATCC 13923

Concentration

:

units/μl

Unit Definition

:

One unit is defined as the amount of enzyme required to completely digest 1 μg of Ad2 in 1 hr at 37°C in 50 μl of assay buffer.

Storage Buffer

:

20mMTris-HCl(pH8.0)

100mMNaCl

1mMDithiothreitol

0.1mMEDTA

0.2%Triton X-100

100μg/mlBovine serum albumin

50%(V/V)Glycerol

Assay Buffer

:

10mMTris-HCl(pH7.5)

7mMMgCl₂

80mMNaCl

7mM2-Mercaptoethanol

Reaction Buffer (Attached)

:

M Buffer (x10 Concentration)

100mMTris-HCl(pH7.5)

100mMMgCl₂

500mMNaCl

10mMDithiothreitol

Overdigestion

:

When 13 units of enzyme was incubated with 1 μg of Ad2 for 16 hrs at 37°C in 50 μl of assay buffer, a normal and sharp pattern was shown on an agarose gel electrophoresis.

Ligation and Recutting

:

After digestion of Ad2 by 4 units of enzyme for 2 hrs at 37°C, 90% of the fragment was ligated with T4 DNA Ligase. 95% of the ligated DNA could be recut under the standard conditions.

Note

:

① Star activity:under low ion concentration,in DMSO solution.

② Enzyme quantity cutting each DNA[1μg]

λ -DNA	pBR322	pUC19	M13mp18	(U)
*	*	*	*	

Store at -20°C

Recognition Sequence

↓

A C T A G T

T G A T C A

↑

Spe I

Code No. **SPE-10***

Lot No. *********

包装

:

200 units(SPE-101)

起源

:

Sphaerotilus natans ATCC 13923

濃度

:

units/μl

活性の定義

:

下記反応液組成において、反応液量 50 μl, 37°C, 60 分間に基質 Ad2 1 μg を完全に分解するために必要な酵素量を 1 単位とする。

形状

:

20mMTris-HCl(pH8.0)

100mMNaCl

1mMDithiothreitol

0.1mMEDTA

0.2%Triton X-100

100μg/mlBovine serum albumin

50%(V/V)Glycerol

反応液組成

:

10mMTris-HCl(pH7.5)

7mMMgCl₂

80mMNaCl

7mM2-Mercaptoethanol

添付バッファー

:

Mバッファー (10 倍濃度)

100mMTris-HCl(pH7.5)

100mMMgCl₂

500mMNaCl

10mMDithiothreitol

過剰テスト

:

13 units の本酵素を上記反応条件にて 16 時間反応させても DNA フラグメントの電気泳動パターンに変化は認められない。

Ligation /Recutting 効率

:

8 倍の酵素で切断した Ad2 フラグメントの 90% が T4 DNA Ligase で Ligation し、そのうち 95%が本酵素で切断される。

特記事項

:

① Star 活性:DMSO,低イオン強度下では、認識配列が甘くなることがあります。

② 以下の DNA 1μg の完全分解に必要な酵素量(Unit)

λ -DNA	pBR322	pUC19	M13mp18
*	*	*	*

*切断部位なし

認識配列

↓

A C T A G T

T G A T C A

↑