

Sph I

Store at -20℃

Recognition Sequence

Code No. SPH-1**

Lot No. ****

Size

:

150 units(SPH-111T), 600 units(SPH-111)
3,000 units(SPH-162)

Source

:

Streptomyces phaeochromogenes

Concentration

:

** units/μl

Unit Definition

:

One unit is defined as the amount of enzyme required to completely digest 1 μg of λ -DNA in 1 hr at 37℃ in 50 μl of assay buffer.

Storage Buffer

:

20 mM Tris-HCl(pH8.2)

150 mM NaCl

1 mM Dithiothreitol

0.1 mM EDTA

500 μg/ml Bovine serum albumin

50 %(V/V) Glycerol

Assay Buffer

:

10 mM Tris-HCl(pH7.5)

7 mM MgCl₂

150 mM NaCl

7 mM 2-Mercaptoethanol

Reaction Buffer (Attached)

:

H Buffer (x10 Concentration)

500 mM Tris-HCl(pH7.5)

100 mM MgCl₂

1,000 mM NaCl

10 mM Dithiothreitol

Overdigestion

:

When 13 units of enzyme was incubated with 1 μg of λ -DNA 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 λ -DNA 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

:

①Enzyme quantity cutting each DNA[1μg]

λ -DNA	pBR322	pUC19	M13mp18	(U)
1	3	5～10	5	

Sph I

認識配列

Code No. SPH-1**

Lot No. ****

包装

:

150 units(SPH-111T), 600 units(SPH-111)
3,000 units(SPH-162)

起源

:

Streptomyces phaeochromogenes

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℃, 60 分間に基質 λ -DNA 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

:

20 mM Tris-HCl(pH8.2)

150 mM NaCl

1 mM Dithiothreitol

0.1 mM EDTA

500 μg/ml Bovine serum albumin

50 %(V/V) Glycerol

反応液組成

:

10 mM Tris-HCl(pH7.5)

7 mM MgCl₂

150 mM NaCl

7 mM 2-Mercaptoethanol

添付バッファー

:

Hバッファー (10 倍濃度)

500 mM Tris-HCl(pH7.5)

100 mM MgCl₂

1,000 mM NaCl

10 mM Dithiothreitol

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 λ -DNA 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以下の DNA 1μg の完全分解に必要な酵素量(Unit)

λ -DNA	pBR322	pUC19	M13mp18
1	3	5～10	5