

内切酶 BsmB I 说明书

【包装规格】

成品名称	成品货号	规格	组分货号	组分名称	组分规格	数量
内切酶 BsmB I	8052451	1000 units	8052451-1	内切酶 BsmB I (10 units/ μ L)	1000 units	1 支
			8052451-2	10 $\times$ BsmB I Buffer	1 mL	1 支

【酶切位点】

5'... C G T C T C (N)₁ ↓ ...3'3'...G C A G A G (N)₅ ↑ ...5'

同裂酶：Esp3 I , BstGZ53 I , Esp16 I , Esp23 I

注:同裂酶对于不同的甲基化修饰也许具有不同敏感性。



【产品简介】

BsmB I 属于 Type IIs 型内切酶中的一种，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。经过优化的反应缓冲液可以使 BsmB I 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。

【储运条件】

-25~-15 °C 保存，有效期 24 个月。

蓝冰运输。

【活性定义】

1 活性单位 (unit) 是指在 50 μ L 反应体系中，55 °C 60 min 内完全酶切 1 μ g λ DNA 所需的酶量。

【建议反应条件】

1 $\times$ BsmB I Buffer 缓冲液；

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。

【质量控制】

超长时间温育检测

最适反应温度下，将 10 units BsmB I 与 1 μ g λ DNA 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 units BsmB I 消化底物，回收酶切产物。在 22 °C 下使用适量 T4 DNA Ligase 可以将的酶切产物重新连接。将连接产物再次回收后，使用相同的内切酶可以重新切开的连接产物。

DNase 残留检测

将 10 units BsmB I 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】

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：

试剂	用量
底物 DNA ^a	≤ 1 µg
内切酶 BsmB I	10 units
10×BsmB I Buffer	5 µL
ddH ₂ O	To 50 µL

a. DNA 底物中应不含苯酚、氯仿、乙醇、EDTA、洗涤剂或高浓度盐，否则将会影响酶的活性；甲基化的 DNA 会抑制某些限制性内切酶酶切反应。

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 5~10 units 酶/µg 质粒 DNA、10~20 units 酶/µg 基因组 DNA，温浴 1 h，如需过夜酶切反应，请将酶量调整至 1 unit；

④ 80 °C 温育 20 min 即可使酶失活，或者通过吸附柱或苯酚/氯仿纯化终止反应。

⑤ 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；

⑥ 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；

⑦ 小体系推荐

底物 DNA	0.1 µg	0.5 µg
BsmB I	1 unit	5 units
10×BsmB I Buffer	1 µL	2.5 µL
ddH ₂ O	Up to 10 µL	Up to 25 µL
Total	10 µL ^b	25 µL

b. 为避免蒸发，10 µL 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】

λDNA	ΦX174	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	EcoK I	EcoB I
无影响	无影响	序列完全重叠 剪切阻断	无影响	序列可能重叠 剪切可能受阻

【图标注释】

-  最适反应温度为 55 °C
-  受 CpG 甲基化影响，序列完全重叠，剪切受阻
-  受 EB 甲基化影响，序列完全重叠，剪切可能受影响
-  失活条件为 80 °C温育 20 min
-  3 h 温育未表现星号活性，延时酶切可能出现星号活性

【说明书修改日期】

2026.06.16

【公司信息】

公司名称：北京行健雅生物技术有限公司(该产品由深圳市达科为生物工程有限公司监制)
公司地址：北京市昌平区生命科学园生命园路 9 号院 3 号楼 F401 室
网址：www.dakewe.com
电话：010-66073686
邮箱：xing_jianya@dakewe.net