

SgeI

REF:ABC21519S



*SgeI 可识别与切割含有 5-mC 位点的 DNA 靶标序列，一条链或双链甲基化均可被识别。



储运条件

-20°C

产品组成

组分	规格
SgeI (5U/μl)	50 μl
10×SgeI Buffer	1 ml

产品简介

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 Storage Buffer 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。

建议反应条件

1× SgeI 缓冲液；

37°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。

酶活定义

在 1×SgeI Buffer 条件下，1 μg pUC19-SgeI DNA (Dcm⁺) 在 50 μl 反应体系中 37°C 孵育 1 h，不断增加酶量，直至酶切产物 DNA 带型不随着酶量的增加而发生变化，此时酶量定义为 1 U。

质量控制

核酸内切酶残留检测

将 3U SgeI 与超螺旋质粒 DNA 在 37°C 温育 4 h，通过 DNA 电泳检测质粒无变化。

核酸外切酶残留检测

将 5U SgeI 与双链 DNA 底物在 37°C 温育 1 h，通过 DNA 电泳检测双链 DNA 底物无变化。

注意事项

- 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。

图标注释

最适反应温度为 37°C

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

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：

	DNA
ddH ₂ O	to 20 μ l
10 \times SgeI Buffer	2 μ l
底物 DNA	2 μ l (0.5-2 μ g)
SgeI	0.2-1 μ l
Total	20 μ l

注：反应体系可以按比例放大或缩小。反应时间不建议超过 1 h。

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 37 $^{\circ}$ C 温育 1 h；

④ 80 $^{\circ}$ C 温育 20 min 即可使酶失活，停止反应（可选）。

甲基化修饰影响

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