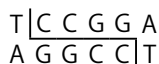


# Acc III (BspM II)



Code No. 1113A      Size :      20 U  
Conc. :      2 U/ $\mu$ l

Supplied Reagents :  
10X Acc III Buffer      1 ml  
10X Loading Buffer      1 ml

**Storage Buffer :**      10 mM Tris-HCl, pH 7.5  
100 mM KCl  
0.1 mM EDTA  
1 mM DTT  
0.01% BSA  
50% Glycerol

**Storage :**      -20°C

**Source :**      *Acinetobacter calcoaceticus*

**General Reaction Mixture :**  
Acc III      1  $\mu$ l  
10X Acc III Buffer      2  $\mu$ l  
Substrate DNA       $\leq$  1  $\mu$ g  
Sterile purified water      up to 20  $\mu$ l

**Reaction Temperature :**      60°C

**Unit definition :**  
One unit is defined as the amount of this enzyme required to digest completely 1  $\mu$ g of  $\lambda$  DNA in 50  $\mu$ l of the reaction mixture at 60°C for 1 hr.

**Quality Control Data :**  
Please see the Certificate of Analysis (CoA) for each lot. You can download the CoA on Takara Bio website.

**Relative Activity in Takara Bio's Universal Buffers :**  
The relative activity in Universal Buffers is shown as 100% of the Basal Buffer.

| Universal Buffer      | L     | M     | H  | K    | T (+BSA) |
|-----------------------|-------|-------|----|------|----------|
| Relative Activity (%) | (<20) | (<20) | 20 | (80) | (<20)    |

( ) : Weak star activity is detected.

## Ionic Effect on Activity in Basal Buffer :

| Salt (mM) | 0   | 20  | 50 | 80 | 100 | 150 | 200 |
|-----------|-----|-----|----|----|-----|-----|-----|
| NaCl (%)  | <10 | <10 | 10 | 40 | 80  | 120 | 100 |
| KCl (%)   | <10 | <10 | 10 | 40 | 120 | 160 | 120 |

## Composition of Basal Buffer (Acc III Buffer) :

10 mM Tris-HCl, pH 8.5  
7 mM MgCl<sub>2</sub>  
200 mM NaCl  
1 mM DTT

## Number of Cleavage Sites in DNA :

|           | SV  | $\phi$ X | pBR | pUC | pUC | M13 | Col  |    |
|-----------|-----|----------|-----|-----|-----|-----|------|----|
| $\lambda$ | Ad2 | 40       | 174 | 322 | 19  | 119 | mp18 | E1 |
| 24        | 8   | 0        | 0   | 1   | 0   | 0   | 0    | 2  |

## Effect of DNA methylation :

This enzyme is cleavable TC<sup>5m</sup>CGGA, but its rate is about 1/75. When the sequence is TCCGGATC, the enzyme activity is affected by dam methylase. In this case, general DNA originated from *E. coli* can not be cleaved by this enzyme.

## Cleavage of pBR322 :

The commercially available pBR322 is substantially not cleavable, because the adenine residues in recognition-sites (TCCGGA) are methylated by dam methylase.

## Compositions of Universal Buffer (Stored at -20°C) :

|          |                                                                                           |          |                                                                                                     |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 10X L | 100 mM Tris-HCl, pH7.5<br>100 mM MgCl <sub>2</sub><br>10 mM Dithiothreitol                | 4. 10X K | 200 mM Tris-HCl, pH8.5<br>100 mM MgCl <sub>2</sub><br>10 mM Dithiothreitol                          |
| 2. 10X M | 100 mM Tris-HCl, pH7.5<br>100 mM MgCl <sub>2</sub><br>10 mM Dithiothreitol<br>500 mM NaCl |          | 1,000 mM KCl<br>5. 10X T<br>330 mM Tris-Ac, pH7.9<br>(BSA-free) 100 mM Mg-Ac<br>5 mM Dithiothreitol |
| 3. 10X H | 500 mM Tris-HCl, pH7.5<br>100 mM MgCl <sub>2</sub><br>10 mM Dithiothreitol                |          | 660 mM K-Ac<br>6. 0.1% BSA<br>7. 0.1% Triton X-100                                                  |
|          | 1,000 mM NaCl                                                                             |          |                                                                                                     |

## Compositions of 10X Loading Buffer (Stored at RT after used) :

0.9% SDS  
50% Glycerol  
0.05% Bromophenol Blue

Add >1/10 volume of 10X Loading Buffer to stop enzyme reaction and apply on agarose gel electrophoresis. SDS may precipitate during the storage at room temperature. In case precipitates generated, dissolve in warm bath before use.

### Note

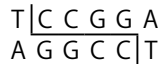
This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc. Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from Takara Bio Inc.

If you require licenses for other use, please contact us by phone at +81 77 565 6973 or from our website at www.takara-bio.com.

Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements.

All trademarks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

# Acc III (BspM II)



Code No. 1113A      容量:      20 U  
濃度:      2 U/ $\mu$ l

## 添付試薬:

10 × Acc III Buffer      1 ml  
10 × Loading Buffer      1 ml

●形状      10 mM Tris-HCl, pH7.5  
100 mM KCl  
0.1 mM EDTA  
1 mM DTT  
0.01% ウシ血清アルブミン  
50% グリセロール

●保存      - 20°C

●起源      *Acinetobacter calcoaceticus*

## ●一般的な反応液

Acc III      1  $\mu$ l  
10 × Acc III Buffer      2  $\mu$ l  
基質 DNA       $\leq$  1  $\mu$ g  
滅菌精製水      up to 20  $\mu$ l

●反応温度      60°C

## ●活性の定義

反応液 50  $\mu$ l 中、60°C で 1 時間に 1  $\mu$ g の  $\lambda$  DNA を完全に分解する酵素活性を 1 U とする。

## ●品質管理

性能試験結果については、各ロットの Certificate of Analysis (CoA) をご覧ください。CoA はタカラバイオウェブサイトからダウンロードできます。

## ●Universal Buffer の相対活性

Basal Buffer で測定したときの酵素活性を 100% とし、相対活性を示す。

|          | L     | M     | H  | K    | T (+ BSA) |
|----------|-------|-------|----|------|-----------|
| 相対活性 (%) | (<20) | (<20) | 20 | (80) | (<20)     |

( ): スター活性が出現しやすい。

## ●Basal Buffer を用いた場合の塩濃度の影響

| 塩濃度 (mM)      | 0   | 20  | 50 | 80 | 100 | 150 | 200 |
|---------------|-----|-----|----|----|-----|-----|-----|
| 相対活性 NaCl (%) | <10 | <10 | 10 | 40 | 80  | 120 | 100 |
| 相対活性 KCl (%)  | <10 | <10 | 10 | 40 | 120 | 160 | 120 |

## Basal Buffer (Acc III Buffer) 組成

10 mM Tris-HCl, pH8.5  
7 mM MgCl<sub>2</sub>  
200 mM NaCl  
1 mM DTT

## ●各種 DNA の切断数

|           | SV  | $\phi$ X | pBR | pUC | pUC | M13 | Col  |    |
|-----------|-----|----------|-----|-----|-----|-----|------|----|
| $\lambda$ | Ad2 | 40       | 174 | 322 | 19  | 119 | mp18 | E1 |
| 24        | 8   | 0        | 0   | 1   | 0   | 0   | 0    | 2  |

## ●メチル化の影響

TC<sup>5m</sup>CGGA を切断できるが、その切断速度は 1/75 に低下する。配列が TCCGGATC の場合は、dam methylase の影響を受ける。この場合、一般的な大腸菌由来の DNA は切断できない。

## ●pBR322 の切断

市販の pBR322 中の Acc III 認識配列 TCCGGGA の A は dam methylase によりメチル化を受けており、ほとんど切断されない。

## ●Universal Buffer 組成 (-20°C 保存)

|           |                          |            |                          |
|-----------|--------------------------|------------|--------------------------|
| 1. 10 × L | 100 mM Tris-HCl, pH7.5   | 4. 10 × K  | 200 mM Tris-HCl, pH8.5   |
|           | 100 mM MgCl <sub>2</sub> |            | 100 mM MgCl <sub>2</sub> |
|           | 10 mM Dithiothreitol     |            | 10 mM Dithiothreitol     |
| 2. 10 × M | 100 mM Tris-HCl, pH7.5   |            | 1,000 mM KCl             |
|           | 100 mM MgCl <sub>2</sub> | 5. 10 × T  | 330 mM Tris-Ac, pH7.9    |
|           | 10 mM Dithiothreitol     | (BSA-free) | 100 mM Mg-Ac             |
|           | 500 mM NaCl              |            | 5 mM Dithiothreitol      |
| 3. 10 × H | 500 mM Tris-HCl, pH7.5   |            | 660 mM K-Ac              |
|           | 100 mM MgCl <sub>2</sub> |            | 6. 0.1% BSA              |
|           | 10 mM Dithiothreitol     |            | 7. 0.1% Triton X-100     |
|           | 1,000 mM NaCl            |            |                          |

## ●10 × Loading Buffer 組成 (開封後、室温保存)

0.9% SDS  
50% Glycerol  
0.05% Bromophenol Blue

反応液量の 1/10 量以上の 10 × Loading Buffer を添加し、酵素反応を止め、アガロースゲルにアプライしてください。また、保存中に SDS が析出することがありますが、温浴で溶解してお使いください。

## ●注意

本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。  
タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。  
ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。  
本データシートに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

v201809Da