

DpnI

产品编号	产品名称	包装
D6258	DpnI	2500U

产品简介:

➤ DpnI内切酶为碧云天最新研发产品, 基本信息如下:

识别序列	缓冲液兼容性(%)						酶切温度	失活条件	甲基化干扰?
GA [*] TC	1X B	1X G	1X O	1X R	1X Y	2X Y	37°C	80°C 20min	甲基化的序列才 可被酶切
CT [*] A*G	100	100	50-100	50-100	100	50-100			

*, 该位点甲基化后才可以被DpnI所识别并酶切。

- DpnI识别并酶切DNA双链中腺嘌呤N6位甲基化(N6-methyladenine)的GATC序列。DpnI识别位点中两个腺嘌呤的N6位都甲基化时, 呈现正常的酶活力; 只有一个腺嘌呤的N6位甲基化时, 酶切活力会降低约60倍。
- 从 dam^+ (Dam甲基化酶表达阳性)大肠杆菌菌株如DH5 α 等提取的质粒的GATC序列中腺嘌呤N6位被甲基化, 从而可以被DpnI识别和酶切; 而从 dam^- (Dam甲基化酶表达阴性)大肠杆菌菌株如JM110等提取的质粒的GATC序列中腺嘌呤N6位没有被甲基化, 从而不能被DpnI识别和酶切(参考图1)。

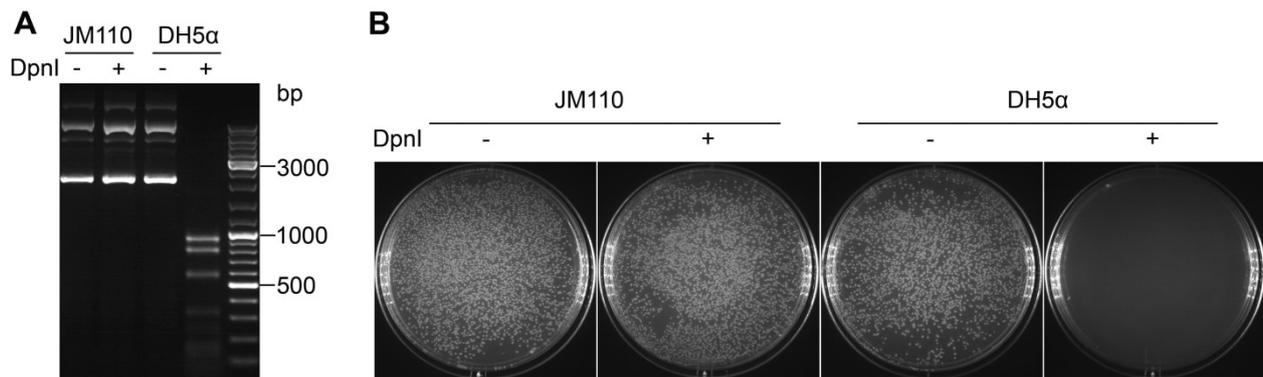


图1. DpnI酶活性检测结果图。A. 分别用从JM110菌株(dam^-)和DH5 α 菌株(dam^+)中提取的质粒400ng, 在20 μ l酶切体系中, 分别加入或不加入10U的DpnI, 37°C酶切1小时, 然后电泳分析。图中可见从DH5 α 中提取得到的甲基化质粒可以被DpnI完全消化, 而对于从JM110中提取得到的非甲基化质粒没有任何非特异性的酶切作用。B. 取图A中各酶切产物5 μ l分别转化DH5 α 感受态细胞然后涂板, 培养过夜。图中可见从DH5 α 中提取得到的甲基化质粒被DpnI消化1小时后, 不会产生任何克隆, 进一步验证了DpnI在1小时内可以完全消化甲基化的质粒, 并确保本产品可以用于质粒点突变。

- 酶储存液组成为: 10mM Tris-HCl (pH7.4 at 25°C), 300mM NaCl, 1mM DTT, 0.1mM EDTA, 0.5mg/ml BSA and 50% glycerol.
- 1X Buffer Y组成为: 33mM Tris-acetate (pH7.9 at 37°C), 10mM magnesium acetate, 66mM potassium acetate, 0.1mg/ml BSA.
- 酶切和连接效率: 50倍过量的本内切酶消化1小时, >70%被酶切的pBR322 DNA片段可以重新连接, 这些片段>95%可以被重新酶切(recut)。
- 活性单位定义: 在37°C, 50微升反应体系中反应1小时, 将1微克的 λ DNA完全分解的酶量定义为1个活性单位, 即1U。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D6258-1	DpnI (10U/ μ l)	2500U
D6010Y	10X Buffer Y	1ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存。

注意事项:

- 内切酶使用时宜存放在冰盒内或冰浴上, 使用完毕后宜立即放置于-20°C保存。
- 如果发现预期的酶切位点不能切开, 请确认特定位点是否已经被甲基化。

- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 单酶切时可以参考如下反应体系进行：

待酶切DNA	不超过1 μ g
双蒸水或Milli-Q水	适量
10X Buffer Y	2 μ l
DpnI	0.5-1 μ l
总体积	20 μ l
37° C孵育1小时或更长时间	

说明： 请注意把Buffer和水等充分混匀后再加入内切酶，加入内切酶后可以用枪吹打或轻轻Vortex混匀。通常参考上述条件孵育1小时已经足够，但多孵育数小时甚至孵育过夜也不会产生负面影响。如果酶切较长时间甚至酶切过夜，可以使用更少量的酶。待酶切DNA量较大时，可以适当延长酶切时间或按比例放大酶切体系。

2. 双酶切或多酶切时，需选择适当的可以兼容两个或多个内切酶的缓冲液，然后参考上表设置反应体系。如果没有合适的缓冲液可以选择，可以在一种酶消化完毕后进行纯化，纯化完毕后再进行另外一种酶切反应。

使用本产品的文献：

1. Zhu W, Xie K, Xu Y, Wang L, Chen K, Zhang L, Fang J. CRISPR/Cas9 produces anti-hepatitis B virus effect in hepatoma cells and transgenic mouse. *Virus Res.* 2016 Jun 2;217:125-32.
2. Wu YR, Zhou ZR, Zhao M, Lin B, Zhong M, Hu Z. Molecular characterization of the thermostability and carbohydrate-binding module from a newly identified GH118 family agarase, AgaXa. *Process Biochemistry.* 2017 Jan;52:192-9.

Version 2017.03.28