

DpnI

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|---------|------|-------|
| D6257S | DpnI | 500U |
| D6257M | DpnI | 2.5KU |
| D6257L | DpnI | 10KU |
| D6257XL | DpnI | 50KU |

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)。

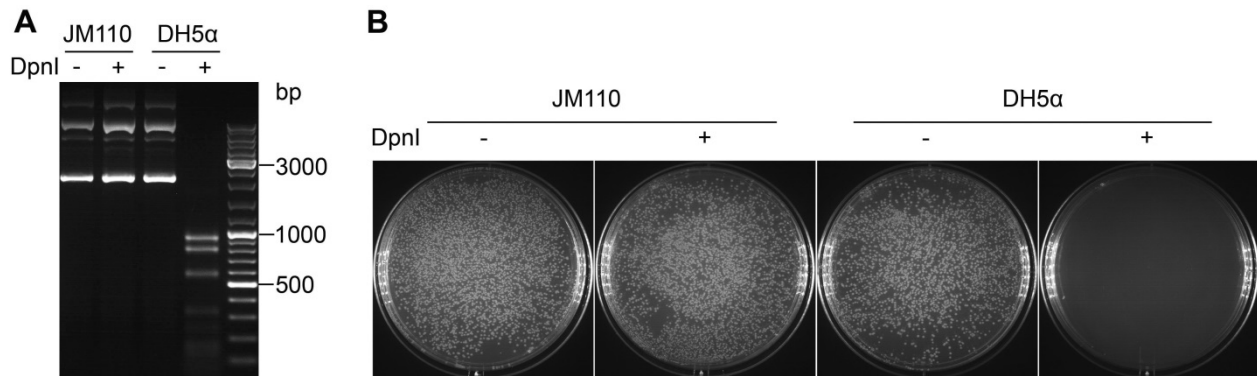


图1. DpnI (D6257)酶活性检测结果图。A. 分别用从JM110菌株(dam^-)和DH5 α 菌株(dam^+)中提取的质粒400ng, 在20 μ l酶切体系中, 分别加入或不加入10U的DpnI, 37°C酶切1小时, 然后电泳分析。图中可见从DH5 α 中提取得到的甲基化质粒可以被DpnI完全消化, 而对于从JM110中提取得到的非甲基化质粒没有任何非特异性的酶切作用。B. 取图A中各酶切产物5 μ l分别转化DH5 α 感受态细胞然后涂板, 培养过夜。图中可见从DH5 α 中提取得到的甲基化质粒被DpnI消化1小时后, 不会产生任何克隆, 进一步验证了DpnI在1小时内可以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 |
|----------|---------------------|------|
| D6257S-1 | DpnI (10U/ μ l) | 500U |
| D6010Y | 10X Buffer Y | 1ml |
| — | 说明书 | 1份 |

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|----------|---------------------|-------|
| D6257M-1 | DpnI (10U/ μ l) | 2.5KU |
| D6010Y | 10X Buffer Y | 1ml |
| — | 说明书 | 1份 |

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|------------|---------------------|------|
| D6257L-1 | DpnI (10U/ μ l) | 10KU |
| D6010Y-4ml | 10X Buffer Y | 4ml |
| — | 说明书 | 1份 |

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|-------------|---------------------|------|
| D6257XL-1 | DpnI (10U/ μ l) | 50KU |
| D6010Y-20ml | 10X Buffer Y | 20ml |
| — | 说明书 | 1份 |

保存条件:

-20°C保存, 至少两年有效。

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.
3. Shuai W, Wu J, Chen S, Liu R, Ye Z, Kuang C, Fu X, Wang G, Li Y, Peng Q, Shi W, Li Y, Zhou Q, Huang W. SUV39H2 promotes colorectal cancer proliferation and metastasis via tri-methylation of the SLIT1 promoter. *Cancer Lett.* 2018 May 28;422:56-69.

Version 2022.10.05