

## Dpn I

### 产品描述

Dpn I 是一种 Dam 甲基化敏感的限制性内切酶，识别 GA/TC 序列，只有当序列中的腺嘌呤 N6-甲基化后才能对 DNA 进行切割。哺乳动物 DNA 的 CpG 甲基化与 Dpn I 酶切位点重叠时会阻断其酶切，另外 Dpn I 对 Dcm 甲基化无酶切作用。该产品适用于质粒 DNA、PCR 产物或基因组 DNA 等的快速酶切反应，被广泛应用于基因分型、分子克隆、Southern 印迹、SNP 分子标记、RFLP 技术等众多研究领域。

其识别序列和切割位点如下：

5'.....G A<sup>m6</sup> ↓ T C.....3'

3'.....C T ↑ A<sup>m6</sup> G.....5'

### 组分和储存条件

Size	500 U	1000 U	5000 U
<b>Components</b>			
Dpn I (20 U/μL)	0.025 mL	0.05 mL	0.25 mL
10X Dpn I Reaction Buffer	0.5 mL	1 mL	5 mL
Store the components at -20 °C.			

### 使用方法

#### DNA 酶切：

1. 参考下表在冰上配置反应体系：

Total Reaction Volume	50 μL	
DNA	X μL	1 μg
10X Dpn I Reaction Buffer	5 μL	
Dpn I	0.5~1 μL	
Nuclease-free Water	X μL	To 50 μL

- 轻轻混匀反应体系，然后瞬时离心收集管壁残液。
- 37 °C 孵育 1 h。
- 80 °C 加热 20 min 可使 Dpn I 失活，终止反应（可选）。

## ■ 注意事项

1. 配置反应体系时最后添加Dpn I酶，并且Dpn I从冰箱取出时要保持在冰上。
2. 通过上下移液吹打或“轻弹”反应管来混合组分。不要采用剧烈的涡旋混合。
3. 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。注意Dpn I只对两个腺嘌呤的N6位都甲基化时才有正常酶活，只有一个腺嘌呤的N6位甲基化时，酶切活力会降低约60倍。
4. 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供选择，可以先用一种酶消化完毕后再进行纯化，纯化完毕后再进行另外一种酶切反应。

## ■ 产品性质

1. 酶活单位 (U) 定义：37°C反应条件下，在含 Dpn I Reaction Buffer 的 50  $\mu$ L 反应体系中，1 h 内酶切 1  $\mu$ g pBR322 DNA(Dam 甲基化)所需的酶量。
2. 储存溶液：10 mM Tris-HCl(pH 7.4)，300 mM NaCl，1 mM DTT，0.1 mM EDTA，200  $\mu$ g/mL Recombinant Albumin，50% Glycerol。
3. 10X Dpn I Reaction buffer: 200 mM Tris-acetate(pH 7.9 @ 25°C)，500 mM Potassium Acetate，100 mM Magnesium Acetate，1 mg/mL Recombinant Albumin。
4. 质量保证：
  - 蛋白纯度检测：SDS-PAGE 检测纯度>95%。
  - 无非特异性核酸酶、内切酶、外切酶残留。
  - 无 RNase 酶残留。
5. 热失活条件：80°C加热 20 分钟可使 Dpn I 失活。
6. 本产品仅作科研用途。

**APEX BIO Technology**

**www.apexbt.com**

7505 Fannin street, Suite 410, Houston, TX 77054.

Tel: +1-832-696-8203 | Fax: +1-832-641-3177 | Email: info@apexbt.com