

## DpnI (High Activity)

产品编号	产品名称	包装
D6259S	DpnI (High Activity)	500U
D6259M	DpnI (High Activity)	2.5KU
D6259L	DpnI (High Activity)	10KU
D6259XL	DpnI (High Activity)	50KU

### 产品简介:

碧云天生产的DpnI (High Activity), 即高活性DpnI, 为碧云天最新自主研发的一种通过基因工程突变改造而获得的具有更高活性的高品质内切酶。与野生型DpnI相比, DpnI (High Activity)能够在短时间内实现大量底物的快速、高效酶切[1, 2], 是用于质粒点突变的理想选择。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 <sup>*</sup> TC	1X B	1X G	1X O	1X R	1X Y	2X Y	37°C	80°C 20分钟	甲基化的序列才可 被酶切
CTA <sup>*</sup> 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。

- ▶ 本产品提供两种不同酶活力浓度的DpnI (High Activity), 低浓度的DpnI (High Activity) (10U/μl) (D6259S/M), 可满足大多数常规分子生物学实验需求; 高浓度的DpnI (High Activity) (100U/μl) (D6259L/XL), 在涉及大量底物高效酶切或缩短反应时间等方面具有显著优势, 可根据实际需求自行选择适当的相应产品。
- ▶ 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[1, 2]。
- ▶ 从 *dam*<sup>+</sup> (Dam甲基化酶表达阳性)大肠杆菌菌株如DH5α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*<sup>-</sup> (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[3]。
- ▶ 碧云天生产的DpnI (High Activity) (D6259)酶活性检测结果请参考图1。

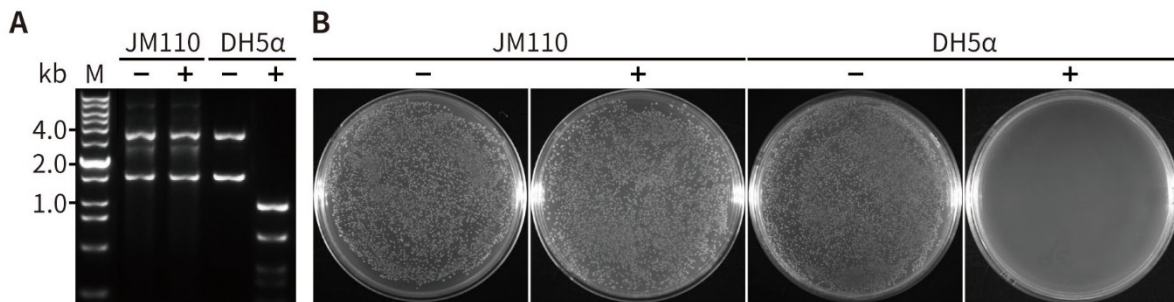


图1. 碧云天生产的DpnI (High Activity) (D6259)酶活性检测结果图。A. 分别用从JM110菌株(*dam*<sup>-</sup>)和DH5α菌株(*dam*<sup>+</sup>)中提取的质粒400ng, 在20μl酶切体系中, 分别加入或不加入10U的DpnI (High Activity), 37°C酶切1小时, 80°C孵育20分钟进行失活, 然后电泳分析。图中可见从DH5α中提取得到的甲基化质粒可以被DpnI (High Activity)完全消化, 而对于从JM110中提取得到的非甲基化质粒没有任何非特异性的酶切作用。B. 取图A中酶切产物5μl分别转化DH5α感受态细胞然后涂板, 培养过夜。图中可见从DH5α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 (High Activity)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。所使用的DNA marker为DNA Ladder (0.2-12 kb, 12 bands) (D0110), 核酸染料为NA-Red (EB升级换代产品, 2000X) (D0128/D0130)。实际检测效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中效果仅供参考。

- ▶ 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: 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λDNA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
D6259S-1	DpnI (High Activity) (10U/μl)	50μl
D6010Y	10X Buffer Y	1ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6259M-1	DpnI (High Activity) (10U/μl)	250μl
D6010Y	10X Buffer Y	1ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6259L-1	DpnI (High Activity) (100U/μl)	100μl
D6010Y-4ml	10X Buffer Y	2ml×2
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6259XL-1	DpnI (High Activity) (100U/μl)	500μl
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。
- 不含核酸酶的超纯水推荐选购碧云天的BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile) (ST876)。
- 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：

Reagent	Volume
Ultrapure Water	(18-x-y) μl
10X Buffer Y	2μl
DNA Substrate	xμl (≤1μg)
DpnI (High Activity)	yμl (0.5~1μl)
Total volume	20μl
Incubate at 37°C for 1h, 2-6h or overnight	

注：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加大DpnI (High Activity)的使用量。

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。

#### 参考文献：

1. Siwek W, Czapińska H, Bochtler M, Bujnicki JM and Skowronek K. Nucleic Acids Res. 2012. 40(15):7563-72.
2. Mierzejewska K, Siwek W, Czapińska H, Kaus-Drobek M, Radlinska M, et al. Nucleic Acids Res. 2014. 42(13):8745-54.
3. Horton JR, Zhang X, Blumenthal RM, Cheng X. Nucleic Acids Res. 2015. 43(8):4296-308.

#### 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D6049	ApaI	2000U

D6050	AscI	400U/2kU/10kU/50kU
D6052	AvrII	200U/1kU/5kU
D6053	BamHI	2000U
D6055	BamHI	10kU/40kU/200kU/800kU
D6093	BglII	500U
D6095	BglII	2kU/10kU/40kU/200kU
D6128	BsaI	1kU/5kU/20kU/200kU
D6132	BspQI	400U/2kU/10kU/40kU
D6133	Nt.BspQI	500U/2kU/10kU
D6176	Cfr9I	2kU/10kU/40kU
D6257	DpnI	500U/2.5kU/10kU/50kU
D6259	DpnI (High Activity)	500U/2.5kU/10kU/50kU
D6266	DpnII	500U/2kU/10kU
D6272	DraI	4kU/20kU/100kU
D6292	EarI	400U/2kU/10kU/40kU
D6329	EcoRI	2000U
D6330	EcoRI	5000U
D6333	EcoRI	10kU/40kU/200kU/800kU
D6337	EcoRV	1500U
D6339	EcoRV	4kU/20kU/100kU/400kU
D6369	HhaI	1kU/5kU/20kU/100kU
D6389	HindIII	2000U
D6390	HindIII	5000U
D6392	HindIII	10kU/40kU/200kU/1000kU
D6403	HpaII	1kU/5kU/20kU
D6417	KpnI	1000U
D6418	KpnI	4kU/20kU
D6436	MboI	200U/1kU/5kU
D6449	MluI	1000U
D6468	MseI	400U/2kU/10kU/40kU
D6470	MspI	4kU/20kU/100kU/500kU
D6481	NcoI	200U
D6482	NcoI	800U/4kU/20kU/100kU
D6485	NdeI	400U
D6486	NdeI	4kU/20kU/100kU
D6489	NheI	200U
D6490	NheI	800U/4kU/20kU/100kU
D6497	NotI	150U
D6498	NotI	1kU/4kU/20kU/100kU
D6538	PleI	500U/2kU/10kU
D6542	PmeI	800U/4kU/20kU/100kU
D6565	PstI	1000U
D6566	PstI	3000U
D6568	PstI	4kU/20kU/100kU
D6581	PvuII	1000U
D6585	RsaI	200U
D6590	SapI	400U/2kU/10kU/40kU
D6593	SacI	500U
D6597	SalI	1000U
D6598	SalI	2kU/10kU/40kU/200kU
D6607	ScaI	2kU/10kU/40kU/200kU
D6633	SmaI	500U

D6635	SmaI	2kU/10kU/40kU/200kU
D6652	SphI	500U/2kU/10kU
D6713	XbaI	1500U
D6715	XbaI	10kU/40kU/200kU
D6718	XcmI	1kU/4kU/20kU/100kU
D6721	XhoI	2000U
D6723	XhoI	2kU/10kU/40kU/200kU
D6730	XmaI	2kU/10kU/40kU
D6847-50µl	SgeI	50µl

Version 2025.02.10