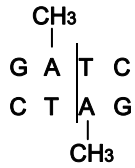


Dpn I



运输温度：-20°C
 保存温度：-20°C

TaKaRa Code : D1233A
 包装量 : 100 Units

附带试剂 : 10×T Buffer 500 μl
 10×Loading Buffer 500 μl

纯度 :

- 1) Overdigestion Test : ≥20 Units
- 2) Ligation-Recutting Test :
 Ligation Effi. : > 70%, Recutting Effi. : >90%

●酶贮存液 :

| | |
|--------|-----------------|
| 10 mM | Tris-HCl, pH7.5 |
| 400 mM | KCl |
| 0.1 mM | EDTA |
| 1 mM | DTT |
| 0.02 % | BSA |
| 50 % | Glycerol |

●起源 : *Escherichia coli* carrying the plasmid encoding *Dpn I* gene

●一般反应体系 :

| | |
|--------------|-------------|
| <i>Dpn I</i> | 1 μl |
| 10×T Buffer | 2 μl |
| DNA | ≤1 μg |
| 灭菌水 | up to 20 μl |

●反应温度 : 37°C

●反应时间 :

在上述 20 μl 的反应体系中, 37°C 反应 1 小时可以完全切断腺嘌呤甲基化 pBR322 DNA, 满足各种实验需求。针对特殊酶切底物 DNA, 如果得不到良好的酶切效果时, 可以适当延长反应时间。

●活性确认 :

在 50 μl 反应液中, 37°C 温度下反应 1 小时, 将 1 μg 的腺嘌呤甲基化 pBR322 DNA 完全分解的酶量定义为 1 个活性单位(U)。

●纯度检测 :

- 1) Overdigestion Test : 在 1 μg DNA 中加入过量的该限制酶, 进行长时间 (24 小时) 酶切反应, 然后进行琼脂糖电泳, 确认切出的 DNA 片段的电泳谱带不发生变化。
- 2) Ligation-Recutting Test : 在经过 10 倍量该酶切出的 DNA 片段中, 加入 T4 DNA Ligase, 使其连接, 然后再使用该酶进行切断反应, 判断 Ligation-Recutting 效率。

●用途 :

特异性地切断 DNA, 或者从 PCR 反应混合液中除去质粒 DNA 模板。

●失活条件 :

在反应液中 70°C, 15 分钟热处理, 完全失活。

●在各种 Universal Buffer 中的相对活性 :

| | L | M | H | K | T | T+BSA |
|----------|----|----|-----|-----|-----|-------|
| 相对活性 (%) | 60 | 60 | 120 | 140 | 100 | 100 |

●各种 DNA 的切断数 :

| λ | Ad2 | SV | φX | pBR | pUC | pUC | M13 | Col |
|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|------|-----|
| | | 40 | 174 | 322 | 19 | 119 | mp18 | E1 |
| 116 | 87 | 8 | 0 | 22 | 15 | 15 | 7 | 19 |

●甲基化的影响 :

不受 CG methylase 的影响, 也不受 dam methylase 的影响。能够切断腺嘌呤甲基化的 GmATC 序列; 不能切断非甲基化的 GATC 序列; 腺嘌呤 hemi-methylated 的 GmATC 序列, 只能部分切断。

●Universal Buffer 组成 (-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 ₂ | | 100 mM MgCl ₂ |
| | 10 mM Dithiothreitol | | 10 mM Dithiothreitol |
| 2.10 × M | 100 mM Tris-HCl, pH7.5 | | 1,000 mM KCl |
| | 100 mM MgCl ₂ | 5.10 × T | 330 mM Tris-Ac, pH7.9 |
| | 10 mM Dithiothreitol | (BSA | 100 mM Mg-Ac |
| | 500 mM NaCl | - Free) | 5 mM Dithiothreitol |
| 3.10 × H | 500 mM Tris-HCl, pH7.5 | | 660 mM K-Ac |
| | 100 mM MgCl ₂ | | 6.0.1% BSA |
| | 10 mM Dithiothreitol | | 7.0.1% Triton X-100 |
| | 1,000 mM NaCl | | |

●10×Loading Buffer 组成

(开封后室温保存)

| | |
|-------|------------------|
| 0.9% | SDS |
| 50% | Glycerol |
| 0.05% | Bromophenol Blue |

使用时添加反应液量的 1/10, 即可停止反应, 进行电泳。-20°C 保存时, 会出现 SDS 沉淀, 请于温水浴中溶解后使用。在室温下保存时, SDS 有时也会出现沉淀, 此时同样请在温水浴中溶解后使用。