

## 产品简介

DpnI 来源于携带从肺炎双球菌 G41 克隆的 DpnI R 基因的大肠杆菌。DpnI 限制性内切酶可有效识别并切断腺嘌呤甲基化的 G<sup>m</sup>ATC, 而不能切断非甲基化的 GATC 序列。能够切断来源于常用 *E.coli*(dam<sup>+</sup>) 的 DNA; 不能切断 PCR 产物。不受 dam methylase 影响。该产品可广泛应用于分子克隆、基因分型、DNA 印迹、RFLP 技术、SNP 等多项技术领域。

## 酶切位点

5' G A<sup>m6</sup> ↓ T C 3'

3' C T ↑ A<sup>m6</sup> G 5'

## 产品组成

组成	E101 (500 U)	E101 (1,000 U)
DpnI (10 U/μl)	50 μl	100 μl
10× Dpn Buffer	500 μl	1ml

## 储存条件

-20°C保存, 于-20 ~ 0°C运输。▲避免反复冻融。

## 单位定义

在 37°C下, 在 50 μl 推荐的反应缓冲液中, 在 1 小时内消化 1 μg pBR322 DNA (dam 甲基化) 所需的 DpnI 量定义为 1 个活性单位 (U)。

## 反应条件

10 × Dpn Buffer	2 μl
甲基化 DNA (0.5-1 μg/μl)	1 μl
DpnI (10 U/μl)	0.5-2 μl
ddH <sub>2</sub> O	Up to 20 μl

混匀置于 37°C下 1-16 h (具体消化时间根据自己的试验情况确定, 不超过 16 h)。

## 灭活条件

85°C 热处理 15~20 min, 可使酶失活。

## 质量控制

RNase 残留检测: 20U 本品和 1 μg HeLa 细胞总 RNA 在 37°C 下孵育 30min, RNA 的电泳谱带不发生变化。

大肠杆菌残留 DNA 残留检测: 50 μl 体系中, 以 ddH<sub>2</sub>O 为模板, 扩增 *E. coli* 16 s rDNA 基因。30 个循环后进行 1% 琼脂糖凝胶电泳, 染色, 无扩增条带。

## 注意事项

- 1、DpnI 需要在识别序列中存在 N6 甲基腺嘌呤。
- 2、DpnI 只会切割完全腺苷甲基化的位点。半腺苷甲基化的 dam 位点 DpnI 的切割速度慢 60 倍。
- 3、DpnI、Bsp143I 和 MboI 都识别同一序列, 但甲基化敏感性和裂解位点不同。