

ApeKI

产品编号	产品名称	包装规格
NBS8217	ApeKI	500 U

产品简介:

ApeKI 来源于超嗜热需氧古生菌(*Aeropyrum pernix*) K1, 属于 Type IIP 型限制酶, 识别并切割 G/CWGC 序列, 形成 3 碱基突出的粘性末端。ApeKI 是基因组简化测序 (genotyping-by-sequencing, GBS) 的首选酶之一, 此外, 还广泛应用于动植物遗传研究、群体进化分析及功能基因定位等领域。

识别位点:

GCWGC

5'...G↓C W G C...3'

3'...C G W C↑G ...5'

同裂酶: TseI

注: 同裂酶对于不同的甲基化修饰可能具有不同敏感性。

产品组成:

组分	规格
ApeKI (10 U/μl)	50 μl
10× Cut Buffer C	1 ml
10× FastCut Buffer	1 ml
10× FastCut Color Buffer	1 ml

保存条件:

-20°C保存, 2 年有效。

建议反应条件:

1× Cut Buffer C;

75°C温育;

参照“DNA 酶切流程”配制反应体系。

失活条件:

不可热失活, 请使用酚氯仿抽提或柱纯化。

甲基化敏感性:

对于被 CpG 甲基化的 DNA, 剪切可能受阻。

活性定义:

1 活性单位 (U) 是指在 50 µl 反应体系中, 75°C 1 h 内完全酶切 1 µg λDNA 所需的酶量。

功能活性检测:

75°C下, 10 U ApeKI 能够在 15 min 内完全消化 1 µg λDNA。

超长时间温育检测:

75°C下, 将 10 U ApeKI 与 1 µg λDNA 共同温育 3 h, 未检测到其他核酸酶污染或星号活性引起的底物非特异性降解。延时酶切可能出现星号活性。

酶切-连接-再酶切检测:

75 °C下, 使用 10 U ApeKI 消化底物, 回收酶切产物。在 22°C下使用适量 T4 DNA Ligase (Fast)可以将酶切产物重新连接。将连接产物再次回收后, 使用相同的内切酶可以重新切开连接产物。

使用方法:**1. DNA 酶切流程**

① 在冰上按如下建议的加样顺序配制反应体系:

ddH ₂ O	up to 50µl
10× Cut Buffer C	5µl

底物 DNA ^a	1μg
ApeKI (10 U/μl)	1μl
Total	50μl

a. DNA 底物中应不含苯酚、氯仿、乙醇、EDTA、洗涤剂或高浓度盐，否则将会影响 ApeKI 酶活性；

② 轻柔吸打或轻弹管壁以混匀（切勿涡旋），然后瞬时离心以收集挂壁液滴；

③ 75°C 温育 15 min~3 h；

④ 酚氯仿抽提或柱纯化（可选）。

不同 DNA 中的酶切位点数量

λDNA	ΦX174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
199	14	21	12	12	22	1	179

甲基化修饰影响

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
无影响	无影响	剪切受阻	无影响	无影响

在不同反应缓冲液中的活性

	FastCut	Thermo Scientific	NEB	Takara
	Buffer	FastDigest Buffer	rCutSmart™ Buffer	QuickCut™ Buffer
活性	12.5%	50%	12.5%	2%

注：活性数据来自限制酶标准反应体系下的检测。

注意事项：

1. 反应体系中加入的酶体积不应超过总体积的 10%，避免酶中过多的甘油引起星号活性；
2. 限制性内切酶存储缓冲液中的添加剂（例如甘油、盐）与底物溶液中的污染物（例如盐、EDTA 或乙醇等）相同，反应体积越小，酶切反应抑制效应越强。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其它用途！

相关常规限制性内切酶产品：

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NBS8216</u>	<u>AarI</u>	100 U
<u>NBS8217</u>	<u>ApeKI</u>	500 U
<u>NBS8218</u>	<u>BbvCI</u>	50 U
<u>NBS8219</u>	<u>BpiI</u>	250 U
<u>NBS8220</u>	<u>BsiWI</u>	300 U
<u>NBS8221</u>	<u>BsmBI</u>	200 U
<u>NBS8222</u>	<u>BspQI</u>	500 U
<u>NBS8223</u>	<u>BsrDI</u>	250 U
<u>NBS8224</u>	<u>BstXI</u>	500 U
<u>NBS8225</u>	<u>PciI</u>	200 U
<u>NBS8226</u>	<u>SgeI</u>	250 U
<u>NBS8227</u>	<u>SgrAI</u>	500 U
<u>NBS8228</u>	<u>SspDI (KasI)</u>	250 U
<u>NBS8229</u>	<u>Swal</u>	1000 U
<u>NBS8230</u>	<u>XmnI</u>	500 U