



兰博利德 LABLEAD

高新技术企业

ApeKI

产品货号: F7519S

储存条件: -20°C, 有效期两年

5'...G[▼]CWGC...3'

3'...CGWC[▲]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/ul)	50 ul
10×Cut Buffer C	1 ml

产品简介

ApeKI来源于嗜热需氧古生菌(*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。

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。本品在 37°C进行酶切反应时, 有<10%的活性。

失活条件: 不可热失活, 请使用酚氯仿抽提或柱纯化。

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。

质量控制

功能活性检测

75°C下, 10 U ApeKI 能够在 15 min 内完全消化 1ug 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 快速酶切流程

(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 50 ul
10×Cut Buffer C	5 ul
底物 DNA ^a	1 ug
ApeKI (10 U/ul)	1 ul
Total	50 ul

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 15min~3h；

(4) 通过吸附柱或苯酚/氯仿纯化终止反应（可选）。

2. 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。

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	10	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

	LabFD™ Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB CutSmart® Buffer	Takara QuickCut™ Buffer
活性	12.5%	50%	12.5%	25%

注：活性数据来自 LABLEAD 限制酶标准反应体系下的检测。

