

ApeKI

REF: EG25519S

5'...G[▼]CWGC...3'
3'...CGWCA[▲]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。

75   

储存条件

-20℃保存 2 年

产品组成

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

产品简介

ApeKI 来源于嗜嗜热需氧古生菌 (*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℃温育；

参照“DNA 酶切流程”配制反应体系。

本品在 37℃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℃ 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℃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℃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℃下，使用 10 U ApeKI 消化底物，回收酶切产物。在 22℃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。

图标注释

 最适反应温度为 75℃

 对于被 CpG 甲基化的 DNA，剪切可能受阻

 不可热失活

 3 h 温育未表现星号活性，延时酶切可能出现星号活性

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

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℃温育 15 min~3 h；

④ 酚氯仿抽提或柱纯化（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

	CutOne [®] Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB rCutSmart [™] Buffer	Takara QuickCut [™] Buffer
活性	12.5%	50%	12.5%	25%

注：活性数据来自百时美限制酶标准反应体系下的检测。