

# Kpn I

## 使用说明书

货号/规格: E1034-A/300 rxns

识别位点:

5' G G T A C↓C 3'  
3' C↑C A T G G 5'

### 产品简介

Kpn I 限制性内切酶可识别 GGTAC<sup>↓</sup>C 位点, 于 37°C 下使用通用型缓冲液在 5–15 分钟内的切割效果最佳。同裂酶: Asp718 I。

东盛限制性内切酶在 *Digest* 和 *Green* 反应缓冲液中均具备 100% 活性。

通用型 *Digest* 缓冲液可实现在 5–15 分钟内快速完成 DNA 单酶切、双酶切或多酶切, 无需更换缓冲液或后续 DNA 纯化步骤。DNA 修饰酶 (如 Klenow 片段、T4 DNA 连接酶、碱性磷酸酶和 T4 DNA 聚合酶) 在缓冲液中均具有 100% 活性。因此, 在下游应用中使用的酶可直接添加至反应混合物中。较短的孵育时间和较优的通用型 *Digest* 缓冲液组成消除了星活性效应。

*Green* 缓冲液包括用于直接将酶切反应产品上样至凝胶的 1 种密度试剂和 2 种示踪染料。

### 产品组成

组分	E1034-A
Kpn I	300 μL
10X <i>Digest</i> Buffer	1 mL
10X <i>Green</i> Buffer	1 mL

### 储存条件

保存于 -20°C。

### 特点

- 所有东盛限制性内切酶在通用型缓冲液中 100% 活性

- 与下游应用的 100% 缓冲液兼容性
- 5–15 分钟内即可完成酶切
- 直接上样至凝胶
- 无星活性

### 适用范围

- 分子克隆
- 限制位点作图
- 基因分型
- *Southern* 印迹
- 限制性片段长度多态性 (RFLP)
- SNP 分析

### 建议反应条件

- 1X *Digest* Buffer 或 1X *Green* Buffer
- 37°C 孵育。
- 1 μL Kpn I 可酶切的最大量:
  - 1 μg lambda DNA, 5 min
  - 1 μg 质粒 DNA, 5 min
  - 0.2 μg PCR 产物, 5 min
  - 1 μg 基因组 DNA, 5 min, 或 5 μg 基因组 DNA, 30 min

### 热失活

80°C 加热 5 min。

### 甲基化对酶切的影响

*Dam*: 从不重叠-无影响。

*Dcm*: 可能重叠-无影响。

*CpG*: 可能重叠-无影响。

*EcoKI*: 从不重叠-无影响。

*EcoBI*: 从不重叠-无影响。

**不同 DNA 中的酶切位点数量**

$\lambda$ DNA	$\Phi$ X174	pBR322	pUC57	pUC18/19	pTZ19R/U	M13mp18/19
2	0	0	1	1	1	1

**使用方法**
**不同 DNA 的快速酶切**

① 室温下按以下顺序准备反应体系：

Component	质粒 DNA	PCR 产物	基因组 DNA
Nuclease-free Water	15 $\mu$ L	17 $\mu$ L	30 $\mu$ L
10X Digest Buffer 或 10X Green Buffer	2 $\mu$ L	2 $\mu$ L	5 $\mu$ L
DNA	2 $\mu$ L (up to 1 $\mu$ g)	10 $\mu$ L (~0.2 $\mu$ g)	10 $\mu$ L (5 $\mu$ g)
enzyme	1 $\mu$ L	1 $\mu$ L	5 $\mu$ L
Total volume	20 $\mu$ L	30 $\mu$ L	50 $\mu$ L

② 温和混匀并瞬离。

③ 在 37°C 孵育 5 分钟。

可选：80°C 加热 5 min 使酶失活。

**DNA 的双酶切或多酶切**

- 反应混合物中酶的总体积不应超过总反应体积的 1/10。
- 每种酶用量为 1  $\mu$ L，适当放大反应条件。
- 如果酶需要不同的反应温度，从需要较低温度的酶开始，然后加入第二种酶，在较高的温度下孵育。

**质粒 DNA 的扩大反应体系**

Component	20- $\mu$ L rxn	20- $\mu$ L rxn	30- $\mu$ L rxn	40- $\mu$ L rxn	50- $\mu$ L rxn
DNA	1 $\mu$ g	2 $\mu$ g	3 $\mu$ g	4 $\mu$ g	5 $\mu$ g
enzyme	1 $\mu$ L	2 $\mu$ L	3 $\mu$ L	4 $\mu$ L	5 $\mu$ L
10X Digest Buffer 或 10X Green Buffer	2 $\mu$ L	2 $\mu$ L	3 $\mu$ L	4 $\mu$ L	5 $\mu$ L

Total volume	20 $\mu$ L	20 $\mu$ L	30 $\mu$ L	40 $\mu$ L	50 $\mu$ L
--------------	------------	------------	------------	------------	------------

注意：注：若总反应量超过 20  $\mu$ L，则增加孵育时间 3-5 min。使用水恒温器，不建议使用空气恒温器，因为热量传递到反应混合物的速度很慢。

本品仅供科学研究使用。