

AarI

产品编号	产品名称	包装规格
NBS8216	AarI	100 U

产品简介:

AarI 属于 Type IIS 型限制酶, 是 PaeCI 的完全同裂酶, 识别 CACCTGC 序列并在其下游进行切割, 形成 4 碱基的 5'突出。不同于常规的 Type IIS 限制酶, AarI 酶切需要两个或两个以上识别位点, 搭配随酶附赠的激活剂可实现完全酶切, 在没有激活剂的情况下可以酶切, 但无法酶切完全。AarI 的识别序列长达 7 碱基, 在基因中的出现频率较低, 尤其适合用于 Golden Gate 组装。

识别位点:

CACCTGC(4/8)

5'...C A C C T G C (N)₄↓...3'

3'...G T G G A C G (N)₈↑...5'

同裂酶: PaeCI

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
AarI (5 U/μl)	20 μl
AarI Activator	20 μl
10× CutOne® Buffer	1 ml
10× CutOne® Color Buffer	1 ml

保存条件:

-20℃保存, 2 年有效。

建议反应条件:

1× CutOne® 缓冲液;

37°C温育;

参照“DNA 酶切流程”配制反应体系。

失活条件:

80°C温育 20 min。

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) 是指在激活剂存在下, 50 µl 反应体系中, 37°C 1 h 内完全酶切 1 µg λDNA 所需的酶量。

功能活性检测:

37°C下, 5 U AarI 能够在 1 h 内完全消化 1 µg p615 DNA。

超长时间温育检测:

37°C下, 将 5 U AarI 与 1 µg p615 DNA 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:

37°C下, 使用 5 U AarI 消化底物, 回收酶切产物。在 22°C下使用适量 T4 DNA Ligase (Fast)可以将超过 95%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约 95%以上的连接产物。

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× CutOne® Buffer 或 10× CutOne® Color Buffer	5µl

底物 DNA ^a	1μg
AarI (5 U/μl)	1μl
AarI Activator ^b	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 AarI 酶活性；

b. AarI 完全酶切需要按 1:1 的比例加入和酶体积一致的激活剂，激活剂在电泳时表现为几十 bp 左右的条带，请避免误判为非特异性切割。

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 37°C 温育 1~3 h；

④ 80°C 温育 20 min 即可使酶失活，停止反应，或者通过吸附柱或苯酚/氯仿纯化终止反应。

不同 DNA 中的酶切位点数量

λDNA	ΦX174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
12	0	0	0	0	0	0	9

甲基化修饰影响

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
无影响	无影响	剪切受影响	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	100%	< 12.5%	100%	< 12.5%

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. AarI 是 PaqCI 的完全同裂酶；
2. AarI 完全酶切需要两个或两个以上识别位点；
3. 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；

4. 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；
5. 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