

## FastCut AatII

产品编号	产品名称	包装规格
NBS8129	FastCut AatII	30rxns

### 产品简介:

FastCut 快速内切酶是一系列经过基因工程重组的快速限制性内切酶，适用于质粒 DNA、PCR 产物或基因组 DNA 等的快速酶切。所有 FastCut 快速内切酶在通用的 FastCut 或 FastCut Color Buffer 中都具有优良的活性，能够在 5~15 分钟内完成酶切。此外去磷酸化、连接试剂在 FastCut Buffer 中均具有 100% 活性，支持一管化反应，提升“酶切 - 修饰 - 连接”的体验。

FastCut Color Buffer 包括红色和黄色示踪染料，可将产物直接用于凝胶电泳。FastCut Color Buffer 的红色染料与 2500 bp 双链 DNA 片段在 1% 琼脂糖凝胶中迁移速率接近；黄色染料与 10 bp 双链 DNA 片段在 1% 琼脂糖凝胶中迁移速率接近。

识别位点: GACGTC

5'...G A C G T ↓ C...3'

3'...C ↑ T G C A G...5'

异裂酶: Zral

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
FastCut AatII	30 μl
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× FastCut 缓冲液;

37°C温育;

参照“DNA 快速酶切流程” 配制反应体系。

**失活条件:**

80°C温育 20 min。

**功能活性检测:**

37°C下, 在 20 μl 通用 FastCut 反应体系中, 1 μl FastCut AatII 能够在 15 min 内完全消化 1 μg λDNA。

**超长时间温育检测:**

37°C下, 在 20 μl 通用 FastCut 反应体系中, 将 1 μl FastCut AatII 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。更长时间酶切可能出现星号活性。

**酶切-连接-再酶切检测:**

37°C下, 使用 10 倍酶量的 FastCut AatII 消化 DNA 底物, 回收酶切产物, 在 22°C下使用 T4 DNA Ligase (Fast)可以将超过 95%的酶切产物重新连接。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 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:

	质粒 DNA	PCR 产物	基因组 DNA
ddH <sub>2</sub> O	15μl	16μl	30μl
10× FastCut Buffer 或 10× FastCut Color Buffer	2μl	3μl <sup>a</sup>	5μl
底物 DNA	2μl (up to 1μg)	10μl (~0.2μg)	10μl (5μg)
FastCut AatII	1μl	1μl	5μl

Total	20 $\mu$ l	30 $\mu$ l	50 $\mu$ l
-------	------------	------------	------------

a.本体系适用于经过纯化的 PCR 产物酶切。未纯化的 PCR 产物具备一定的离子强度，10 $\times$  FastCut Buffer 加入量可适当减少至 2  $\mu$ l。但由于 DNA 聚合酶同时具有外切酶活性，会影响酶切产物，因此如下一步需进行克隆等操作，建议酶切前对 PCR 产物进行纯化。

- 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 $^{\circ}$ C 温育 15 min（质粒），或 15~30 min（PCR 产物），或 30~60 min（基因组 DNA）；
- ④ 80 $^{\circ}$ C 温育 20 min 即可使酶失活，停止反应（可选）；
- ⑤ 如果使用 FastCut Color Buffer 进行酶切反应，得到的产物可以直接进行上样电泳。

## 2. 双酶切或多酶切

- ① 每种快速内切酶的用量为 1  $\mu$ l，并根据需要适当扩大反应体系；
- ② 所有快速内切酶的体积总和不得超过总反应体系的 1/10；
- ③ 如果所用的几种快速内切酶的最适反应温度不同，应先以最适温度低的酶开始酶切，再添加最适温度较高的酶，在其最适反应温度下进行酶切反应。

## 3. 适用于质粒的扩大反应体系

DNA	1 $\mu$ g	2 $\mu$ g	3 $\mu$ g	4 $\mu$ g	5 $\mu$ g
FastCut AatII	1 $\mu$ l	2 $\mu$ l	3 $\mu$ l	4 $\mu$ l	5 $\mu$ l
10 $\times$ FastCut Buffer 或 10 $\times$ FastCut Color Buffer	2 $\mu$ l	2 $\mu$ l	3 $\mu$ l	4 $\mu$ l	5 $\mu$ l
Total	20 $\mu$ l	20 $\mu$ l	30 $\mu$ l	40 $\mu$ l	50 $\mu$ l

注：如果总反应体系大于 20  $\mu$ l，应适当增加温育时间，尽量使用水浴、金属浴或沙浴。

## 不同 DNA 中的酶切位点数量

$\lambda$ DNA	$\Phi$ X174	pBR322	pUC57	pUC18/19	SV40	M13mp18/19	Adeno2
10	1	1	1	1	0	0	3

**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 Buffer	Thermo Scientific FastDigest Buffer	NEB rCutSmart™ Buffer	Takara QuickCut™ Buffer
活性	100%	< 25%	100%	< 25%

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. AatII 在低离子强度下活性会受到抑制。如果反应缓冲液 pH 在 25°C 下未介于 7.5 和 8.0 之间，则酶活性会降低。
2. 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！