



LabFD Aval 快速内切酶 Aval

产品货号: F6503S

储存条件: -20°C



同裂酶: BsiHKCI, Eco88I, BsoBI, Ama87I (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 |
|------------------------|--------|
| LabFD™Aval | 100 ul |
| 10×LabFD™ Buffer | 1ml |
| 10×LabFD™ Color Buffer | 1ml |

产品简介

LabFD™ 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 LabFD™ 快速内切酶在通用的LabFD™或LabFD™ 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, 兰博利德去磷酸化、连接试剂在LabFD™ 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。LabFD™ 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。LabFD™ 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。

建议反应条件: 1×LabFD™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。

质量控制

功能活性检测

37°C下, 在 20ul 反应体系中, 1ul LabFD™Aval 能够在 15min 内完全消化 1ug λDNA。

超长时间温育检测

37°C下, 将 1ul LabFD™Aval 与1ug λDNA 共同温育 3h, 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。

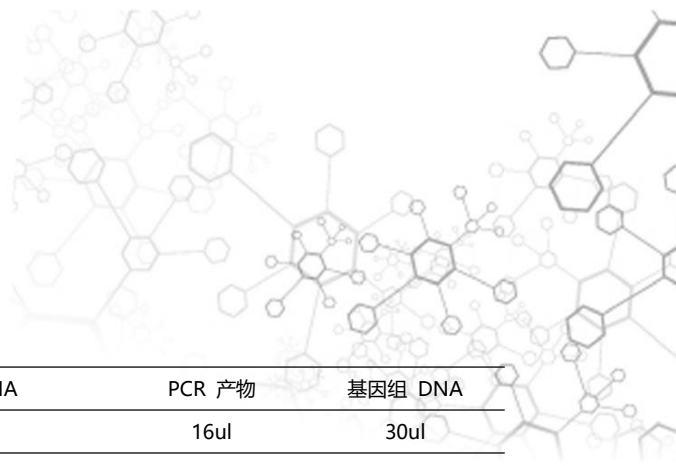
酶切-连接-再酶切检测

37°C下, 使用 10 倍酶量的 LabFD™ Aval 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 95% 以上的连接产物。

蓝白斑检测

使用1ul LabFD™ Aval消化含有lacZα 基因且仅在该基因上具有1个酶切位点的特定载体。将酶切产物重新连接后转化到大肠杆菌感受态细胞中, 涂布在含有X-gal、IPTG和相应抗生素的LB平板培养基上生长。成功连接的β-半乳糖苷酶基因可以正确表达, 并生长出蓝色菌落; 而因酶切末端降解等原因未能重新连接的产物将得到白色菌落。对于LabFD系列限制酶而言, 白色菌落的比例应当小于1%。





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 ₂ O | 15ul | 16ul | 30ul |
| 10×LabFD™ Buffer 或 10×LabFD™ Color Buffer | 2ul | 3ul | 5ul |
| 底物 DNA | 2ul(up to 1ug) | 10ul(~0.2ug) | 10ul(5ug) |
| LabFD™ Aval | 1ul | 1ul | 5ul |
| Total | 20ul | 30ul | 50ul |

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× LabFD™ Buffer 加入量可适当减少至2μl。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°C温育 15min（质粒），或 15~30min（PCR 产物），或 30~60min（基因组 DNA）；
- (4) 80°C温育 20 min 即可使酶失活，停止反应（可选）。
- (5) 如果使用 LabFD™ 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1ul，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

注：如果总反应体系大于 20ul，应当增加温育时间，尽量使用水浴、金属浴或沙浴。

| DNA | 1ug | 2ug | 3ug | 4ug | 5ug |
|---|------|------|------|------|------|
| LabFD™Aval | 1ul | 2ul | 3ul | 4ul | 5ul |
| 10×LabFD™ Buffer 或 10×LabFD™ Color Buffer | 2ul | 2ul | 3ul | 4ul | 5ul |
| Total | 20ul | 20ul | 30ul | 40ul | 50ul |

不同 DNA 中的酶切位点数量

| λDNA | ΦX174 | pBR322 | pUC57 | pUC18/19 | SV40 | M13mp18/19 | Adeno2 |
|------|-------|--------|-------|----------|------|------------|--------|
| 8 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 | 40 |

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 | 100% | 100% | 100% | 100% |

注：活性数据来自 LABLEAD 限制酶标准反应体系下的检测。

