Acc65I 快速内切酶

货号：F6506S

储存条件：-20℃



同裂酶：Asp718I，异裂酶：KpnI 注：异裂酶会产生不同的末端，同裂酶/异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™ Acc65I	60 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、能够在 5~15 分钟内精确完成 DNA 切割的高保真限制性内切酶，适用于质粒 DNA、PCR 产物或基因组 DNA 等的快速酶切。LabFD™快速内切酶具有如下特点：5~15 分钟内即可完成酶切；共用一种酶切 Buffer，大大简化酶切反应体系；良好的酶活冗余度，轻松应对底物过量或困难模板酶切。此外，LABLEAD 去磷酸化、连接试剂在 LabFD™酶切 Buffer 中具有 100%活性，支持一管化反应，提升“酶切-修饰-连接”的体验。10×LabFD™ Color Buffer 中包括红色和黄色示踪染料，可将产物直接用于凝胶电泳，其中红色染料与 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℃温育；参照“DNA 快速酶切流程”配制反应体系。

失活条件：65℃温育 5min。

质量控制

功能活性检测

最适反应温度下，在 20ul 反应体系中，1ul LabFD™ Acc65I 能够在 15min 内完全消化 1ug p615 DNA。

超长时间温育检测

最适反应温度下，将 1ul LabFD™ Acc65I 与 1ug p615 DNA 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

最适反应温度下，使用 10 倍酶量的 LabFD™ Acc65I 消化底物，回收酶切产物。在 22℃下使用适量 Fast T4 DNA Ligase 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 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
ddH2O	15ul	16ul	30ul
10×LabFD™ Buffer 或 10×LabFD™ Color Buffer	2ul	3ul[a]	5ul
底物 DNA	2ul(up to 1ug)	10ul(~0.2ug)	10ul(5ug)
LabFD™ Acc65I	1ul	1ul	5ul
Total	20ul	30ul	50ul

a 注：本体系适用于经过纯化的 PCR 产物酶切，未纯化的 PCR 具备一定的离子强度，10xLabFD™buffer 加入量可适当减少至 2ul。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℃温育 15min（质粒），或 15~30min（PCR 产物），或 30~60min（基因组 DNA）；

4) 65℃ 温育 5min 灭活（可选）。

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

DNA	1ug	2ug	3ug	4ug	5ug
LabFD™ Acc65I	1ul	2ul	3ul	4ul	5ul
10×LabFD™ Buffer 或 10×LabFD™ Color Buffer	2ul	2ul	3ul	4ul	5ul
Total	20ul	20ul	30ul	40ul	50ul

注：如果总反应体系大于 20ul，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

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

甲基化修饰影响

Dam	Dcm	CpG	EcoKI	EcoBI
无影响	剪切受阻	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。