



快速内切酶 Avall

产品货号: F7509S

储存条件: -20°C



同裂酶: Bme18I, Eco47I (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™ Avall	100 ul
10×LabFD™ Buffer	1 ml
10×LabFD™ Color Buffer	1 ml

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, LABLEAD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 buffer; 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™ Avall 能够在 15min 内完全消化 1ug λDNA。

超长时间温育检测

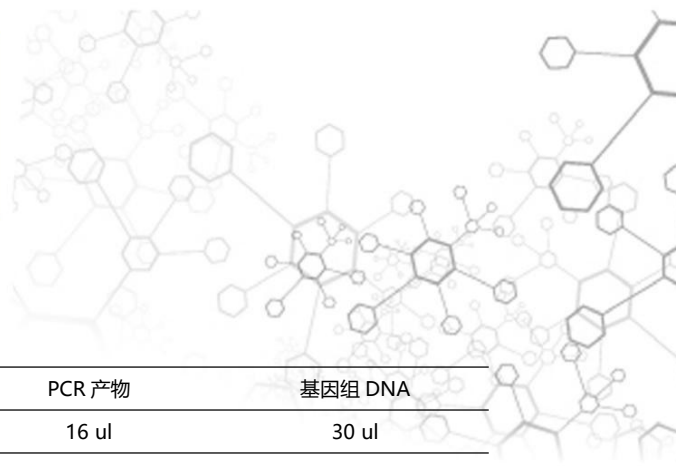
37°C下, 在 20ul 反应体系中, 将1ul LabFD™ Avall与1ug λDNA共同温育 3h, 未检测到其他核酸酶污染或星号活性引起的底物非特异性降解, 更长时间酶切可能出现星号活性。

酶切-连接-再酶切检测

37°C下, 使用 10倍酶量的 LabFD™ Avall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。

注: 研究发现, 部分 Type IIP 限制酶可以识别并切割 DNA-RNA 杂合链, Avall 属于其中一种, 但其切割杂合链的能力远低于切割 dsDNA 的能力。经验证, Avall 切割杂合链需要超过切割相同摩尔数的 dsDNA 所需的至少 80 倍的酶量 (文献参考值为 240 倍), 若需要使用 Avall 分析 RNA, 建议根据实验需求自行调整酶切时间和反应体系。





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

注：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2 μl。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15 min（质粒），或15~30 min（PCR产物），或30~60 min（基因组DNA）；
- (4) 80°C温育 20 min 即可使酶失活，终止反应；
- (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1 μl，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 ug	2 ug	3 ug	4 ug	5 ug
LabFD™ Avall	1 ul	2 ul	3 ul	4 ul	5 ul
10×LabFD Buffer 或 10×LabFD Color Buffer	1 ul	2 ul	3 ul	4 ul	5 ul
Total	20 ul	20 ul	30 ul	40 ul	50 ul

注：如果总反应体系大于 20 μl，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
35	1	8	2	2	6	1	73

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。

