

AatII 快切酶

浓度：20 U/μL

#M10001	
包装规格：	250 U
	500 U
	2500 U

保存及运输条件

干冰或湿冰（冰袋）运输；-20℃ 保存，有效期为 24 个月（储存缓冲液含 50%甘油）。避免反复冻融。

活性单位定义

在 37℃ 条件下，于 50 μL 总反应体积中，1 小时内完全消化 1 μg λ DNA 所需的酶量定义为 1 个活性单位（U）。



警告：本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

产品组成

组分	#M10001 S0250 (250 U)	#M10001 M0500 (500 U)	#M10001 X2500 (2500 U)
AatII (20 U/μL)	12.5 μL	0.025 mL	0.125 mL
10X REv4 Buffer	1 mL	1 mL	1 mL

识别位点

5'...G A C G T↓C...3'

3'...C↑T G C A G...5'

注：↓ 与 ↑ 示双链 DNA 的切割位置。

产品介绍

AatII 快切酶为基因工程重组表达的 II 型限制性内切酶，识别序列 GACGT/C 并切割双链 DNA，产生 4 碱基 3′ 突出末端。37℃ 下 5~15 分钟即可完成酶切，在专用配套缓冲液中活性达 100%，可用于质粒 DNA、PCR 产物及基因组 DNA 的高效消化。

产品优势

- 高效省时：37℃ 条件下 5~15 分钟内完成酶切，显著

缩短实验流程；

- 缓冲液通用性强：在专用配套缓冲液中具有 100% 活性，可与绝大多数内切酶同管反应，简化双酶切操作；
- 重组表达、纯度高，无其他核酸酶残留，批次稳定性好；
- 与 ZraI 识别位点相同，可互为替代。

产品应用

- 基因克隆与重组 DNA 构建；
- 表达载体构建；
- CRISPR/Cas9 基因编辑验证；
- DNA 指纹图谱；
- Golden Gate 组装。

建议反应条件

- 1X REv4 Buffer；
- 37℃ 温育 5~15 min；
- 80℃ 加热 20 min 可使酶完全失活。

操作步骤

1. 酶切反应体系配制（20 μL 体系）
在冰上按如下顺序配制反应体系：

组分	使用量
无核酸酶水	至 20 μL
10X REv4 Buffer	2 μL
底物 DNA	≤1 μg
AatII 快切酶 (20 U/μL)	0.5~1 μL
总体积	20 μL

注：加酶量不宜超过反应总体积的 1/10，请根据底物类型与用量适当调整。

2. 混匀与酶切反应

- 1) 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；
- 2) 37℃ 温育 5~15 min（质粒 DNA）；
- 3) 或 15~30 min（PCR 产物）、30~60 min（基因组 DNA）；
- 4) 可根据底物情况延长温育时间，直至 DNA 完全消化。

3. 反应终止（可选）

- 1) 80℃ 加热 20 min，可使酶完全失活，停止反应；
- 2) 或加入 EDTA 至终浓度 10 mM 终止反应。
4. 产物检测

- 1) 酶切产物可直接进行琼脂糖凝胶电泳分析；

2) 如需上样缓冲液，可取适量产物与凝胶上样缓冲液混匀后上样。

5. 双酶切或多酶切（可选）

1) 每种内切酶的用量为 1 μ L，并根据需要适当扩大反应体系；

2) 所有内切酶的体积总和不得超过总反应体系的 1/10；

3) AatII 在 1X REv4 Buffer 中具有 100%活性，可与多数内切酶同管反应；若所用的几种内切酶最适反应温度不同，应先在最适温度较低的酶反应温度下进行酶切，再加入最适温度较高的酶于其最适反应温度下继续反应。

注意事项

- 推荐 37°C 反应，加酶量不宜超过反应总体积的 1/10；反应缓冲液 pH（25°C）应保持在 7.5~8.0，偏酸会导致酶活下降；
- 对 dam、dcm 甲基化不敏感，但 CpG 甲基化会阻断酶切；
- 80°C 加热 20 分钟可使酶完全失活；
- 在自配或其他非专用缓冲液中可能出现星号活性，请

使用配套缓冲液，并避免甘油终浓度超过 5% 或长时间（过夜）温育。