

## Agel 快切酶

浓度：20 U/μL

| #M10002 |        |
|---------|--------|
| 包装规格：   | 300 U  |
|         | 1500 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              | #M10002<br>S0300<br>(300 U) | #M10002<br>M1500<br>(1500 U) |
|-----------------|-----------------------------|------------------------------|
| Agel (20 U/μL)  | 0.015 mL                    | 0.075 mL                     |
| 10X REv4 Buffer | 1 mL                        | 1 mL                         |

### 识别位点

5'...A↓C C G G T...3'  
3'...T G G C C↑A...5'

注：↓ 与 ↑ 示双链 DNA 的切割位置。

### 产品介绍

Agel 快切酶为重组表达的 II 型限制性内切酶，识别并切割 A/CCGGT 序列，产生带 5′ 突出末端的片段。经工程化改造，星号活性显著降低，长时反应特异性更佳。对 dam、dcm 甲基化不敏感，37℃ 下 5~15 分钟即可完成酶切，适合质粒、PCR 产物及基因组 DNA 的快速消化。

### 产品优势

- 快速高效：37℃ 下 5~15 分钟内完成酶切；

- 高保真改造：星号活性明显降低，延长反应时间仍保持良好特异性；
- 在专用配套缓冲液中 100% 活性，双酶切无需更换缓冲体系；
- 重组表达、纯度高，批次稳定；
- AsiGI、BshTI、PinAI 与其识别位点一致，可互相替代。

### 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；
- 65℃ 加热 20 min 可使酶完全失活。

### 操作步骤

- 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    |
| Agel 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) 65℃ 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  $\mu$ 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) Agel 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，加酶量不超过反应总体积的 1/10；
- 对 dam、dcm 甲基化不敏感，CpG 甲基化会阻断酶切；
- 65°C 加热 20 分钟可灭活；
- 酶切不完全时可适当延长温育时间或补加酶量，同时注意底物浓度不宜过高、甘油含量勿超过 5%。