



NruI

NruI

Restriktions-Endonuklease

Erkennungssequenz:

5'-T C G C G A-3'
3'-A G C G C T-5'

Best.Nr.	Größe
E2297-01	1 000 Einheiten
E2297-02	5 000 Einheiten

Reaktionstemperatur: **37°C**

Inaktivierungstemperatur (20 min): **65°C**

Prototyp: **Nrul**

Quelle: *Nocardia rubra*

Packungsinhalt:

- Nrul
- 10x Reaktionspuffer ONE
- BSA [100x]
 - Wird als separate Komponente beigefügt, um Ausfällungen im Reaktionspuffer vorzubeugen.
- Dilution Buffer # 1
 - Nur für Enzyme in höheren Konzentrationen als 10 U/µl. Hohe Proteinkonzentrationen gewährleisten Stabilität für langfristige Lagerung. Mittels Dilution Buffer können Arbeitsverdünnungen in gebräuchlichen Konzentrationen (5-10 U/µl) erstellt werden, die bei -20°C nicht durchfrieren.

Lagerungsbedingungen: Lagerung bei -20°C

Doppelverdau - Pufferkompatibilität: Puffer ONE ist kompatibel mit den meisten EURx Restriktionsenzymen.

Empfohlener Puffer: **ONE**
(oder kompatible Puffer anderer Hersteller)

DNA Methylierung:
Keine Inhibition: dcm, EcoKI
Inhibition (Blockiert): dam, CpG

Standard-Protokoll für Restriktionsverdau:

Zusammenfügen folgender Reaktionskomponenten:

- 1-2 µg DNA oder 10 µl PCR-Produkt (= ~0.1-2 µg DNA)
 - 5 µl 10x Puffer ONE
 - 0.5 µl BSA [100x]
 - 1-2 U Nrul (bzw. 1 U/µg DNA, < 10 % Reaktionsvolumen!)
- Tips: Enzym als letzte Komponente zufügen.
Komponenten vor Zugabe des Enzyms gut mischen.
Nach Enzymzugabe nicht vortexen, vorsichtig mischen.
Hohe Enzymmengen (Überschuss) können den Reaktionsablauf deutlich beschleunigen.
@ 50 µl H₂O, DNA- und DNase frei

Inkubation für 1 h bei 37°C

Um DNA mit hohem Molekulargewicht (z.B. genomische DNA von Pflanzen) vollständig zu schneiden, sollte ein Überschuss an Enzym eingesetzt und die Reaktionszeit verlängert werden.

Stoppen der Reaktion (Alternativen):

- (a) 2.1 µl EDTA pH 8.0 [0.5 M] zufügen, Endkonz. 20 mM *oder*
- (b) Hitzeinaktivierung
20 min bei 65°C *oder*
- (c) DNA Reinigung mit Zentrifugationssäulen
(z.B. EURx PCR/DNA CleanUp Kit, Best.Nr. E3520) *oder*
- (d) Gelelektrophorese, Ausschneiden einzelner Banden
(z.B. EURx AgaroseOut DNA Kit, Best.Nr. E3540) *oder*
- (e) Phenol-Chloroform Extraktion oder Ethanolgefällung.

Nicht optimale Pufferbedingungen:

Um verminderter Enzymaktivität entgegenzuwirken, kann die Enzymmenge und / oder die Reaktionszeit erhöht werden. Als Orientierungshilfe dienen folgende Werte:

- *Enzymmenge*: Anstelle von 1 U Enzym werden ~4 U Enzym in Puffern mit 25 % rel. Aktivität, ~2 U in 50 %, ~1.5 U in 75 % oder ~1 U in 100 % eingesetzt.
- *Reaktionszeit*: Erhöhung um das ~1.3-fache (75 % Rel. Aktivität), ~2-fache (50 %) oder ~4 fache (25 %).

Definition der Einheit:

Eine Einheit ist die Menge des Enzyms, die erforderlich ist, um 1 µg unmethylierte Lambda DNA vollständig zu schneiden. Die Inkubation wird bei 37°C für 1 Stunde in einem Reaktionsvolumen von 50 µl im optimalen Reaktionspuffer durchgeführt.

Kompatibilität des Reaktionspuffers:

Dieses Enzym ist vollständig kompatibel zu Puffersystemen anderer Hersteller. Bitte beachten Sie auch die entsprechenden Bedienungsanleitungen von Drittanbietern.

Lagerungspuffer (Storage Buffer):

50 mM Tris-HCl (pH 7.5 bei 22°C), 100 mM KCl, 1 mM EDTA, 10 mM beta-Mercaptoethanol, 0,1 mM PMSF; 500 µg/ml Rinderserumalbumin und 50 % [v/v] Glycerin.

Qualitätskontrolle:

Alle Chargen werden auf Einzelstrangsnick (Nicking-) Aktivität, Endonuklease-, Exonuklease-, sowie auf unspezifische einzel - und doppelsträngige DNase- Aktivitäten geprüft. Die Enzymspezifität wurde durch Ligation und erneute Restriktion bestätigt.