



# FokI

## Fok I

### Restriktions-Endonuklease

#### Erkennungssequenz:



Best.Nr.	Größe
E2170-01	500 Einheiten
E2170-02	2 500 Einheiten

Reaktionstemperatur: **37°C**

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

Prototyp: **FokI**

Quelle: *Flavobacterium okeanokoites*

#### Packungsinhalt:

- FokI
- 10x Reaktionspuffer ONE
- BSA [100x]

Wird als separate Komponente beigelegt, um Ausfällungen im Reaktionspuffer vorzubeugen.

#### → Dilution Buffer # 2

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:

Empfohlener Puffer: **ONE**

#### DNA Methylierung:

Keine Inhibition: dam, EcoKI  
Potentielle Inhibition: dcm, 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
- 1 µl BSA [100x]

1 U FokI (bzw. 1 U/µg DNA, < 10 % Reaktionsvolumen!)

Tips: Enzym als letzte Komponente zufügen.

Komponenten vor Zugabe des Enzyms gut mischen.

Nach Enzymzugabe nicht vortexten, vorsichtig mischen.

@ 50 µl H<sub>2</sub>O, DNA- und DNase frei

Inkubation für 1 h bei 37°C

##### 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.

#### Wichtiger Hinweis:

##### Es wird nicht empfohlen,

- mehr als eine Einheit FokI pro µg DNA einzusetzen,
- die Reaktion für länger als zwei Stunden zu inkubieren.

#### Definition der Einheit:

Eine Einheit ist die Menge des Enzyms, die erforderlich ist, um 1 µg 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):

10 mM Tris-HCl (pH 7.4 bei 25°C), 50 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM Dithiothreitol, 0.1 % Tween 20, 200 µg/ml Rinderserumalbumin und 50 % [v/v] Glycerin.

#### Qualitätskontrolle:

Alle Chargen werden auf Endonuklease-, Exonuklease-, sowie auf unspezifische einzel- und doppelsträngige DNase- Aktivitäten geprüft.