



# PvuII RS\*

- Reduzierte \* - Aktivität -

## Pvu II red. star

- Reduzierte \* - Aktivität -  
Restriktions-Endonuklease

### Erkennungssequenz:

5`-C A G C T G-3`  
3`-G T C G A C-5`

Best.Nr.	Größe
E2331-01	5 000 Einheiten
E2331-02	25 000 Einheiten

**Reaktionstemperatur:** 37°C

**Inaktivierungstemperatur (20 min):** --

**Prototyp:** PvuII

**Quelle:** *Proteus vulgaris*

### Packungsinhalt:

- PvuII
- 10x Reaktionspuffer ONE
- BSA [100x]
  - Wird als separate Komponente beigegefügt, 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.

\* - Das Enzym besitzt unter gewissen Bedingungen unspezifische („Star“-)Aktivität.

### Empfohlener Puffer: ONE

(oder kompatible Puffer anderer Hersteller)

### DNA Methylierung:

Keine Inhibition: dam, dcm, EcoKI, 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 PvuII (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.  
@ 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  
(nicht anwendbar für dieses Enzym) *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* Ethanol-fällung.

**Hinweis: Um unspezifische Schnittmuster (Star Aktivität) zu vermeiden, empfiehlt es sich, die Reaktion nicht über nacht zu inkubieren.**

#### Nicht optimale Pufferbedingungen:

Um verminderter Enzymaktivität entgegenzuwirken, kann die Enzymmenge und / oder die Reaktionszeit erhöht werden (wenn die genannten Limitationen für Enzymeinheiten je µg DNA und für die Reaktionszeit nicht überschritten 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 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 22°C), 200 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM Dithiothreitol, 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.