

# BsuTUI

## BsuTUI

Restriktions-Endonuklease

Erkennungssequenz:

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

Best.Nr.	Größe
E2110-01	1 000 Einheiten
E2110-02	5 000 Einheiten

Reaktionstemperatur: **37°C**

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

Prototyp / Isoschizomer: **Clal**

Quelle: *Bacillus subtilis* TU

Packungsinhalt:

- BsuTUI
- 10x Reaktionspuffer Acet
- 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	% Relative Aktivität
Low	0
Medium	75
High	50
Acet	<u>100</u>

Empfohlener Puffer: **Acet**

(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 Acet
  - 0.5 μl BSA [100x]
  - 1-2 U BsuTUI (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 H<sub>2</sub>O, 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 Ethanol-fällung.

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 Lambda DNA vollständig zu schneiden. Die Inkubation wird bei 37°C für 1 Stunde in einem Reaktionsvolumen von 50 μl in optimalen Reaktionspuffer durchgeführt.

Reaktionspuffer (Reaction Buffer):

**1x Acet Buffer**: 20 mM Trisacetat (pH 7.5 bei 37°C), 10 mM Magnesiumacetat, 50 mM Kaliumacetat, 1 mM Dithiothreitol, 100 μg/ml Rinderserumalbumin.  
Zu ergänzen mit 100 μg/ml Rinderserumalbumin.

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), 300 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM Dithiothreitol, 0.015 % [v/v] Triton™X-100, 100 μg/ml Rinderserumalbumin und 50 % [v/v] Glycerin.

Qualitätskontrolle:

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