



# MspI

## Msp I

### Restriktions-Endonuklease

#### Erkennungssequenz:



Best.Nr.	Größe
E2290-01	5 000 Einheiten
E2290-02	25 000 Einheiten

**Reaktionstemperatur:** 37°C

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

**Prototyp / Isoschizomer:** HpaII

**Quelle:** *Moraxella species TN*

#### Packungsinhalt:

- MspI
  - 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:**  
ONE Buffer ist kompatibel zu fast allen EURx Restriktionsenzymen.

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

**DNA Methylierung:**  
Keine Inhibition: dam, dcm, CpG, EcoKI

**Hinweis:** MspI schneidet sowohl an methylierten als auch an unmethylierten CpG Erkennungsstellen. Dagegen schneidet das Isoschizomer HpaII (Best.Nr. E2260) methylierte DNA nicht. Deshalb kann mittels vergleichender Restriktionsverdaus mit beiden Enzymen, HpaII und MspI, bestimmt werden, ob eine Erkennungsstelle methyliert ist oder nicht.

#### 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 MspI (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. 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 %).

##### Kompatibilität des Reaktionspuffers:

Dieses Enzym ist vollständig kompatibel zu Puffersystemen anderer Hersteller und kann in Doppelverdaus eingesetzt werden. Bitte beachten Sie auch die entsprechenden Bedienungsanleitungen von Drittanbietern.

##### 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 43°C für 1 Stunde in einem Reaktionsvolumen von 30 µl durchgeführt.

##### Lagerungspuffer (Storage Buffer):

10 mM Tris-HCl (pH 7.5 bei 22°C), 50 mM KCl, 1 mM Dithiothreitol, 0.1 mM EDTA, 100 µg/ml Rinderserumalbumin und 50 % [v/v] Glycerin.

##### Reaktionspuffer (Reaction Buffer):

**1 x ONE Buffer:**  
Zu ergänzen mit 100 µg/ml Rinderserumalbumin.

##### Qualitätskontrolle:

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