



NarI

NarI

Restriktions-Endonuklease

Erkennungssequenz:



Best.Nr.	Größe
E2291-01	200 Einheiten
E2291-02	1 000 Einheiten

Reaktionstemperatur: 37°C

Inaktivierungstemperatur (20 min): 65°C

Prototyp: NarI

Quelle: *Nocardia argentinensis*

Packungsinhalt:

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

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

→ Dilution Buffer # NarI

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

DNA Methylierung:

Keine Inhibition: dam, EcoKI
Potentielle Inhibition: dcm
Inhibition (Blockiert): 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 NarI (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.

Hinweis:

Manche NarI-Erkennungsstellen werden nur sehr langsam geschnitten, beispielsweise die Schnittstelle des pBR 322-Vektors an Position 548 bp.

Definition der Einheit:

Eine Einheit ist die Menge des Enzyms, die erforderlich ist, um 1 µg unmethylierter Ad-2 DNA vollständig zu schneiden. Die Inkubation wird bei 37°C für 1 Stunde in einem Reaktionsvolumen von 50 µl im optimalen Reaktionspuffer durchgeführt.

Lagerungspuffer (Storage Buffer):

10 mM Tris-HCl (pH 7.5 bei 25°C), 200 mM NaCl, 1 mM Dithiothreitol, 0.1 mM EDTA, 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.