



SfiI

SfiI

Restriktions-Endonuklease

Erkennungssequenz:

5'-G G C C N N N N N G G C C-3'
3'-C C G G N N N N N C C G G-5'

Best.Nr.	Größe
E2380-01	2 000 Einheiten
E2380-02	10 000 Einheiten

Reaktionstemperatur: 50°C

Inaktivierungstemperatur (20 min): --

Prototyp: SfiI

Quelle: *Streptomyces fibriatus*

Packungsinhalt:

- SfiI
- 10x Reaktionspuffer ONE
- BSA [100x]
 - Wird als separate Komponente beigelegt, um Ausfällungen im Reaktionspuffer vorzubeugen.
- Dilution Buffer # 3
 - 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

(oder kompatible Puffer anderer Hersteller)

Hinweis: SfiI benötigt zwei Kopien seiner Erkennungssequenz, um DNA zu schneiden.

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
 - 0.5 µl BSA [100x]
 - 1-2 U SfiI (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 50°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
(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.

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 98 % von 1 µg pBC4 DNA zu schneiden. Die Inkubation wird bei 50°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):

5 mM K/PO₄ (pH 7.4 bei 4°C), 300 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM Dithiothreitol, 0,15 % [v/v] Tergitol™ TMN,, 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.