



NotI RS*

- Reduzierte * - Aktivität -

NotI red. star Restriktions-Endonuklease

Erkennungssequenz:

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

Best.Nr.	Größe
E2296-01	500 Einheiten
E2296-02	2 500 Einheiten

Reaktionstemperatur: 37°C

Inaktivierungstemperatur (20 min): 65°C

Prototyp: NotI

Quelle: Gen aus *Nocardia otitidis-caviarum*
Rekombinant, gereinigt aus einem *E. coli*-Stamm, der
das codierende Gen für das Restriktionsenzym trägt.

Packungsinhalt:

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

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

Lagerungsbedingungen: Lagerung bei -20°C

Doppelverdau – Pufferkompatibilität: Puffer ONE ist
kompatibel mit den meisten EURx Restriktions-
enzymen.

Empfohlener Puffer: ONE

(oder kompatible Puffer anderer Hersteller)

DNA Methylierung:

Keine Inhibition: dam, dcm, EcoKI
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 NotI (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 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 pBC4 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):

20 mM Tris-HCl (pH 7.5 bei 4°C), 200 mM NaCl, 0.1 mM EDTA,
1 mM Dithiothreitol, 0.15 % [v/v] Tergitol™ TMN, 200 µg/ml Rinder-
serumalbumin und 50 % [v/v] Glycerin.

Qualitätskontrolle:

Alle Chargen werden auf Einzelstrangsnick (Nicking-) Aktivität,
Endonuklease-, Exonuklease-, sowie auf unspezifische einzel - und
doppelsträngige DNase- Aktivitäten geprüft. Die Enzymspezifität wurde durch
Ligation und erneute Restriktion bestätigt.