



TaqII

Taq II

Restriktions-Endonuklease

Erkennungssequenz:



Best.Nr.	Größe
E2411-01	100 Einheiten
E2411-02	500 Einheiten

Reaktionstemperatur: **65°C**

Inaktivierungstemperatur (20 min): **---**

Prototyp: **TaqII**

Quelle: *Thermus aquaticus*

Hinweis 1: Rekombinant hergestellt aus einem *E. coli* - Stamm, der das *taqRII* - Gen aus *Thermus aquaticus* trägt*.

* patent pending

Packungsinhalt:

- TaqII
- 10x Reaktionspuffer ONE
- Dilution Buffer: Taq II

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)

DNA Methylierung:

Keine Inhibition: dam, dcm, EcoKI
Potentielle Inhibition: 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
 - 1 U TaqII (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.
@ 50 µl H₂O, DNA- und DNase frei

Inkubation für 3 Stunden bei 65°C

Stoppen der Reaktion (Alternativen):

- (a) 1.2 µl EDTA pH 8.0 (0.5 M) zufügen, Endkonz. 20 mM *oder*
- (b) Hitzeinaktivierung
20 min bei 89°C (nicht empfohlen) *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 1: Es wird nicht empfohlen, mehr als eine Einheit des Enzyms pro 1 µg DNA einzusetzen.

Hinweis 2: Es wird empfohlen, den Reaktionsansatz für länger als 1 Stunde zu inkubieren. Beste Ergebnisse werden nach drei Stunden Reaktionszeit erzielt.

Hinweis 3: PCR Produkte müssen vor dem Restriktionsverdau zwingend aufgereinigt werden. Ein Verdau nicht gereinigter PCR Produkte führt zu unbefriedigender Restriktionsaktivität.

Definition der Einheit:

Eine Einheit ist die Menge des Enzyms, die erforderlich ist, um 1 µg pBR322 DNA so zu schneiden, dass ein stabiles Bandenmuster erhalten wird. Die Inkubation wird bei 75°C für 1 Stunde in einem Reaktionsvolumen von 50 µl im optimalen Reaktionspuffer durchgeführt.

Reaktionspuffer (Reaction Buffer):

1 x ONE Buffer

Lagerungspuffer (Storage Buffer):

20 mM Tris-HCl (pH 7.5 bei 22°C), 0.1 mM EDTA, 200 mM NaCl,
1 mM Dithiothreitol, 200 µg/ml Rinderserumalbumin,
0.02 % [v/v] Tergitol™ TMN, 0.02 % Tween™20, 50 % [v/v] Glycerin.

Qualitätskontrolle:

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