



XhoI

Xho I

Restriktions-Endonuklease

Erkennungssequenz:

5`-C T C G A G-3`
3`-G A G C T C-5`

Best.Nr.	Größe
E2440-01	4 000 Einheiten
E2440-02	20 000 Einheiten

Reaktionstemperatur: 37°C

Inaktivierungstemperatur (20 min): 65°C

Prototyp: XhoI

Quelle: *Xanthomonas holcicola*

Packungsinhalt:

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

Wird als separate Komponente beigelegt, 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: Puffer ONE ist kompatibel mit den meisten EURx Restriktionsenzymen.

Empfohlener Puffer: ONE

(oder kompatible Puffer anderer Hersteller)

DNA Methylierung:

Keine Inhibition: dam, dcm, EcoKI
Inhibition (Beeinträchtigung): 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 XhoI (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 Stunde 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 Lambda / HindIII 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):

50 mM Tris-HCl (pH 7.4 bei 25°C), 200 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 5 mM beta-Mercaptoethanol, 0.1% Tergitol™ TMN, 500 µg/ml Rinderserumalbumin, 50 % [v/v] Glycerin.

Qualitätskontrolle:

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