

# SinI

## SinI

Restriktions-Endonuklease

### Erkennungssequenz:



Best.Nr.	Größe
E2385-01	1 000 Einheiten
E2385-02	5 000 Einheiten

Reaktionstemperatur: 37°C

Inaktivierungstemperatur (20 min): --

Prototyp / Isoschizomer: **AvalI**

Quelle: *Salmonella infantis*





### Packungsinhalt:

- SinI
- 10x Reaktionspuffer Acet
- 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	% Relative Aktivität
Low	 75
Medium	 50
High	 25
Acet	 <u>100</u>

SinI wird durch Zugabe von 100 μg/ml BSA weder beschleunigt noch gehemmt.

### Empfohlener Puffer: **Acet**

(oder kompatible Puffer anderer Hersteller)

### 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 Acet

1-2 U SinI (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 H<sub>2</sub>O, 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

(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 Ethanolfällung.

#### 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 Phagen - DNA vollständig zu schneiden. Die Inkubation wird bei 37°C für 1 Stunde in einem Reaktionsvolumen von 50 μl im optimalen Reaktionspuffer durchgeführt.

#### Reaktionspuffer (Reaction Buffer):

**1 x Acet Buffer:** 20 mM Trisacetat (pH 7.5 bei 37°C), 10 mM Magnesiumacetat, 50 mM Kaliumacetat, 1 mM Dithiothreitol.

#### Kompatibilität des Reaktionspuffers:

Dieses Enzym ist vollständig kompatibel zu Puffersystemen anderer Hersteller. Bitte beachten Sie auch die entsprechenden Bedienungsanleitungen von Drittanbietern.

#### Lagerungspuffer (Storage Buffer):

10 mM Tris-HCl (pH 7.5 bei 22°C), 50 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.