

1. ОПИСАНИЕ

BamHI — классическая эндонуклеаза рестрикции из *Bacillus amyloliquefaciens* H, экспрессированная в клетках *E. coli*. Изошизомер: **Asil, Bsp98I**

2. ПРОТОКОЛ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

СТАНДАРТНАЯ РЕСТРИКЦИЯ

1. Смешайте: ДНК 1000 нг, 5 мкл 10X CutFast Buffer, воды до 49 мкл.
2. Добавьте 1 мкл рестриктазы.
3. Инкубируйте при 37°C 30–60 минут.

3. СОВЕТЫ ОТ R&D ОТДЕЛА

- На эффективность рестрикции сильно влияет чистота выделенной плазмиды. Наличие этанола, изопропанола, фенола или хлороформа, сорбента для выделения ДНК сильно снижают активность рестриктазы.
- Во избежание появления неспецифической активности не рекомендуется добавлять фермент больше чем 10% от объема реакционной смеси
- Для препаративной рестрикции при количестве ДНК более 1 мкг необходимо подобрать общий объем реакции так, чтобы итоговая концентрация ДНК была 100-150 нг/мкл. На 100 мкл реакционной смеси следует добавлять не менее 2 мкл рестриктазы.
- Избегайте многократных циклов замораживания-размораживания для реакционного буфера (рекомендуется аликвотирование).
- Рестриктаза нечувствительна к **Dam**, **Dcm** и **CpG** метилированию, что позволяет работать с ДНК из любых источников.

4. СПЕЦИФИКАЦИЯ НАБОРА

500 РЕАКЦИЙ

- 1 пробирка: 500 мкл фермента в буфере для хранения
- 1 пробирка : 1.5 мл 10х реакционного буфера
- 1 пробирка : 1.5 мл 6х буфер для нанесения ДНК Нуар

1500 РЕАКЦИЙ

- 3 пробирки по 500 мкл фермента в буфере для хранения
- 2 пробирки по 1.5 мл 10х реакционного буфера
- 1 пробирка : 1.5 мл 6х буфер для нанесения ДНК Нуар

5. ХАРАКТЕРИСТИКИ

АКТИВНОСТЬ

20 ед./мкл

ИНАКТИВАЦИЯ

Не инактивируется нагреванием

6. СОСТАВ РАСТВОРОВ

Буфер для хранения: 10 мМ Tris-HCl, 150 мМ NaCl, 1 мМ DTT, 0.1 мМ EDTA, 200 мкг/мл БСА, 0.15% Triton X-100, 50% Глицерин (pH 7.5)

Буфер CutFast (10×): 500 мМ KOAc, 200 мМ Tris-OAc, 100 мМ Mg(OAc)₂, 1 мг/мл БСА, pH 7.9

7. КЛЮЧЕВЫЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

За одну единицу активности принято количество фермента, которое за **60** минут при **37°С** полностью расщепляет **1** мкг ДНК фага λ в реакционном объеме **50** мкл.

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Срок годности **1** год. Фермент и реакционный буфер необходимо хранить при температуре **-20°С**