

1. ОПИСАНИЕ

DraI — эндонуклеаза из *Deinococcus radiophilus*, экспрессированная в клетках *E. coli*. Изошизомер: SruI

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).

4. ЧАСТЫЕ ВОПРОСЫ (FAQ)

В: Влияет ли метилирование на DraI?

О: Нет. Рестриктаза нечувствительна к Dam, Dcm и CpG метилированию, что позволяет работать с ДНК из любых источников.

В: Можно ли оставлять реакцию рестрикции на ночь?

О: Да. DraI CutFast не содержит неспецифических экзо- и эндонуклеаз

5. СПЕЦИФИКАЦИЯ НАБОРА

50 РЕАКЦИЙ

- 1 пробирка: 50 мкл фермента в буфере для хранения
- 1 пробирка : 0.5 мл 10x реакционного буфера
- 1 пробирка : 1.5 мл 6x буфер для нанесения ДНК Нуар

150 РЕАКЦИЙ

- 3 пробирки по 50 мкл фермента в буфере для хранения
- 1 пробирка : 1.5 мл 10x реакционного буфера
- 1 пробирка : 1.5 мл 6x буфер для нанесения ДНК Нуар

250 РЕАКЦИЙ

- 5 пробирок по 50 мкл фермента в буфере для хранения
- 1 пробирка : 1.5 мл 10x реакционного буфера

6. ХАРАКТЕРИСТИКИ

АКТИВНОСТЬ

20 ед./мкл

ИНАКТИВАЦИЯ

Полная инактивация при 80 °С, 20 мин

7. СОСТАВ РАСТВОРОВ

Буфер для хранения: 10 мМ Tris-HCl, 50 мМ KCl, 1 мМ DTT, 0.1 мМ EDTA, 200 мкг/мл БСА, 50% Глицерин (pH 7.4)

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

8. 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.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Фермент и реакционный буфер необходимо хранить при температуре -20 °С