1. ОПИСАНИЕ

HgaI – эндонуклеаза из *Haemophilus gallinarum* , экспрессированная в клетках *E. coli*.

2. ПРОТОКОЛ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

СТАНДАРТНАЯ РЕСТРИКЦИЯ

1. Смешайте: ДНК 1000 нг, 5 мкл 10X CutFast Buffer, воды до 49 мкл.
2. Добавьте 1-2 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.
- 1 мкл фермента можно использовать для рестрикции в объеме меньше 50 мкл, во избежание появления неспецифической активности не рекомендуется добавлять рестриктазу 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 3 мкл рестриктазы.
- Избегайте многократных циклов замораживания-размораживания для реакционного буфера (рекомендуется аликвотирование).
- Рестриктаза нечувствительна к Dam и Dcm метилированию, однако метилированные CpG блокируют активность рестриктазы.

4. СПЕЦИФИКАЦИЯ НАБОРА

50 РЕАКЦИЙ

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

150 РЕАКЦИЙ

3 пробирки по 50 мкл фермента в буфере для хранения
1 пробирка : 1.5 мл 10х 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

5. ХАРАКТЕРИСТИКИ

АКТИВНОСТЬ	**0.5 ед./мкл.**
ИНАКТИВАЦИЯ	**Полная инактивация при 65°C, 20 мин**

6. СОСТАВ РАСТВОРОВ

Буфер для хранения: 25 мМ HEPES, 250 мМ NaCL, 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

7. КЛЮЧЕВЫЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

За одну реакцию принято полное расщепление 1 мкг контрольной плазмидной ДНК за 60 минут при 37°C в 1x буфере CutFast при добавлении 1 мкл HgaI в реакционный объем 50 мкл.

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

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