

## 1. ОПИСАНИЕ

XbaI CutFast — эндонуклеаза из *Xanthomonas badrii*, 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 мкл рестриктазы.
3. Инкубируйте при 37°C 5-15 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 Dcm и CpG метилированию, но при перекрывании с Dam сайтом блокирует реакцию.

#### 4. 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

#### 5. ХАРАКТЕРИСТИКИ

##### АКТИВНОСТЬ

2 ед./мкл

##### ИНАКТИВАЦИЯ

Полная инактивация при 65 °С, 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)<sub>2</sub>, 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 контрольной плазмиды в реакционном объеме 50 мкл.

## 8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

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