



# CviJI

## CviJI

### Restriktions-Endonuklease

#### Erkennungssequenz:

5'-Pu G C Py-3'  
3'-Py C G Pu-5'

<b>Best.Nr.</b>	<b>Größe</b>
E2125-01	100 Einheiten
E2125-02	400 Einheiten

**Reaktionstemperatur:** 37°C

**Inaktivierungstemperatur (20 min):** 50°C

**Prototyp:** CviJI

**Quelle:** *Chlorella* virus IL-3A

**Hinweis 1:** Rekombinant. Gereinigt aus einem *E. coli*-Stamm, der das *cvjRI* - Gen aus dem *Chlorella*-Virus IL-3A trägt.  
(Patent Nr. US005472872A)

#### Packungsinhalt:

- CviJI
- 5x Reaktionspuffer CviJI

**Lagerungsbedingungen:** Lagerung bei -20°C

#### Doppelverdau – Pufferkompatibilität:

Puffer	% Relative Aktivität
Low	NE***
Medium	NE***
High	NE***
Acet	NE***

**Empfohlener Puffer:** CviJI

#### Literatur:

- Xia, Y., Burbank, D., Uher, L., Rabussay, D. und Van Etten, J. *Nucleic Acids Res.* 15, 6075-6090.
- Fitzgerald, M.C., Skowron, P., Van Etten, J.L., Smith, L.M. und Mead, D.A. (1992) *Nucleic Acids Res.* 20, 3753-3762.
- Mead, D., Swaminathan, N., Van Etten J. und Skowron, P.M.: *Recombinant CviJI restriction endonuklease.* (1995) *United States Patent no US005472872A.*
- Skowron, P.M., Swaminathan, N., McMaster, K., George, D., Van Etten, J. und Mead, D. *Gene* 157 (1995) 37-41.
- Swaminathan, N., McMaster, K., Skowron, P. und Mead, D.A. *Analytical Biochemistry* 255 (1998) 133-141.

#### Beschreibung:

CviJI ist eine Restriktionsendonuklease, die DNA an einer sehr kurzen Erkennungssequenz von zwei oder drei Basen schneidet (1,2, 3) und somit neuartige molekularbiologische Anwendungen ermöglicht (4). Die vorliegende unmodifizierte Form spaltet DNA normalerweise in der Basenabfolge 5'-Pu G C Py-3' zwischen dem G und C und erzeugt stumpfe („blunt“) Enden (4). Die Aktivitäten der Enzyme CviJI und CviJI\* (Best. Nr. E2126) unterscheiden sich (1,2). Das Enzym CviJI schneidet weniger oft als CviJI\* und eignet sich aus diesem Grunde besser für die hoch auflösende Kartographierung („mapping“) kurzer DNA Fragmente wie z.B. Amplifikationsprodukte oder kleine Plasmide. Andere CviJI-Applikationen wie z.B. „shotgun“ Klonierungen, „epitope mapping“ oder das Markieren von Nukleinsäuren („Thermal Cycle Labelling“, 5, Abb. 1) können sowohl mit CviJI als auch mit CviJI\* durchgeführt werden.

#### Standard-Protokoll für Restriktionsverdau:

##### Zusammenfügen folgender Reaktionskomponenten:

1-2 µg DNA oder 10 µl PCR-Produkt (=0.1-2 µg DNA)  
5 µl 5x Puffer CviJI

1-2 U CviJI (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.

Mittels Partialverdau unter nicht optimalen Bedingungen können zufällig geschnittene stumpfe (blunt)-DNA Fragmente für randomisierte Genbanken hergestellt werden.

@ 25 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):

- 1.1 µl EDTA pH 8.0 (0.5 M) zufügen, Endkonz. 20 mM *oder*
- Hitzeinaktivierung  
20 min bei 50°C *oder*
- DNA Reinigung mit Zentrifugationssäulen  
(z.B. EURx PCR/DNA CleanUp Kit, Best.Nr. E3520) *oder*
- Gelelektrophorese, Ausschneiden einzelner Banden  
(z.B. EURx AgaroseOut DNA Kit, Best.Nr. E3540) *oder*
- Phenol-Chloroform Extraktion oder Ethanol-fällung.

#### Definition der Einheit:

Eine Einheit ist die Menge des Enzyms, die erforderlich ist, um 1 µg pBR322 DNA vollständig zu schneiden. Die Inkubation wird bei 37°C für 1 Stunde in einem Reaktionsvolumen von 25 µl durchgeführt.

#### Reaktionspuffer (Reaction Buffer):

**1 x CviJI Buffer:** 20 mM Glycylglyzin-KOH (pH 8.5), 10 mM Magnesiumazetat, 50 mM Kaliumazetat, 0.1 mM Dithiothreitol, 10% DMSO.

**Hinweis 2:** Der Reaktionspuffer (Reaction Buffer) liegt als 5x konzentrierte Stammlösung bei.

#### Lagerungspuffer (Storage Buffer):

20 mM Trisazetat (pH 8.0 bei 22°C), 50 mM Kaliumazetat, 0.5 mM EDTA, 3 mM Dithiothreitol, 5 mM Magnesiumazetat und 50% (v/v) Glycerin.

#### Qualitätskontrolle:

Alle Chargen werden auf Endonuklease-, Exonuklease-, sowie auf unspezifische einzel- und doppelsträngige DNase- Aktivitäten geprüft.