



# SaII RS\*

- Reduzierte \* - Aktivität -

## SaII red. star Restriktions-Endonuklease

### Erkennungssequenz:

5'-G T C G A C-3'  
3'-C A G C T G-5'

Best.Nr.	Größe
E2371-01	2 000 Einheiten
E2371-02	10 000 Einheiten

**Reaktionstemperatur:** 37°C

**Inaktivierungstemperatur (20 min):** 65°C

**Prototyp:** Sall

**Quelle:** Gen aus *Streptomyces albus*  
Rekombinant, gereinigt aus einem *E. coli*-Stamm, der das codierende Gen für das Restriktionsenzym trägt.

### Packungsinhalt:

- Sall
- 10x Reaktionspuffer ONE
- BSA [100x]  
Wird als separate Komponente beigelegt, um Ausfällungen im Reaktionspuffer vorzubeugen.
- Dilution Buffer # 1  
Nur für Enzyme in höheren Konzentrationen als 10 U/µl. Hohe Proteinkonzentrationen gewährleisten Stabilität für langfristige Lagerung. Mittels Dilution Buffer können Arbeitsverdünnungen in gebräuchlichen Konzentrationen (5-10 U/µl) erstellt werden, die bei -20°C nicht durchfrieren.

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

**Doppelverdau – Pufferkompatibilität:** Puffer ONE ist kompatibel mit den meisten EURx Restriktionsenzymen.

**Empfohlener Puffer:** ONE  
(oder kompatible Puffer anderer Hersteller)

**DNA Methylierung:**  
Keine Inhibition: dam, dcm, EcoKI  
Inhibition (Blockiert): CpG

### Standard-Protokoll für Restriktionsverdau:

#### Zusammenfügen folgender Reaktionskomponenten:

- 1-2 µg DNA oder 10 µl PCR-Produkt (=0.1-2 µg DNA)
- 5 µl 10x Puffer ONE
- 0.5 µl BSA [100x]
- 1-2 U Sall (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.  
@ 50 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):

- (a) 2.1 µl EDTA pH 8.0 [0.5 M] zufügen, Endkonz. 20 mM *oder*
- (b) Hitzeinaktivierung  
20 min bei 65°C *oder*
- (c) DNA Reinigung mit Zentrifugationssäulen  
(z.B. EURx PCR/DNA CleanUp Kit, Best.Nr. E3520) *oder*
- (d) Gelelektrophorese, Ausschneiden einzelner Banden  
(z.B. EURx AgaroseOut DNA Kit, Best.Nr. E3540) *oder*
- (e) Phenol-Chloroform Extraktion oder Ethanol-fällung..

#### Nicht optimale Pufferbedingungen:

Um verminderter Enzymaktivität entgegenzuwirken, kann die Enzymmenge und / oder die Reaktionszeit erhöht werden. Als Orientierungshilfe dienen folgende Werte:

- **Enzymmenge:** Anstelle von 1 U Enzym werden ~4 U Enzym in Puffern mit 25 % rel. Aktivität, ~2 U in 50 %, ~1.5 U in 75 % oder ~1 U in 100 % eingesetzt.
- **Reaktionszeit:** Erhöhung um das ~1.3-fache (75 % Rel. Aktivität), ~2-fache (50 %) oder ~4 fache (25 %).

#### Definition der Einheit:

Eine Einheit ist die Menge des Enzyms, die erforderlich ist, um 1 µg pBC4 DNA vollständig zu schneiden. Die Inkubation wird bei 37°C für 1 Stunde in einem Reaktionsvolumen von 50 µl im optimalen Reaktionspuffer durchgeführt.

#### Reaktionspuffer (Reaction Buffer):

**1 x ONE Puffer.**  
Zu ergänzen mit 100 µg/ml Rinderserumalbumin.

#### Kompatibilität des Reaktionspuffers:

Dieses Enzym ist vollständig kompatibel zu Puffersystemen anderer Hersteller. Bitte beachten Sie auch die entsprechenden Bedienungsanleitungen von Drittanbietern.

#### Lagerungspuffer (Storage Buffer):

10 mM Tris-HCl (pH 7.5 bei 22°C), 50 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM Dithiothreitol, 300 µg/ml Rinderserumalbumin und 50 % [v/v] Glycerin.

#### Qualitätskontrolle:

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