

核酸内切酶 VIII

E745665

储存温度 -20℃ 储存, ≤0℃ 运输

产品介绍

本公司生产的核酸内切酶 VIII,即 Endonuclease VIII 来自大肠杆菌,是由阿拉丁自主研发的技术平台表达、纯化获得的重组内切酶。Endonuclease VIII 是一种 DNA 损伤修复酶,具有 N-糖基化酶(N-glycosylase)活性和 AP 裂解酶(AP-lyase)活性。Endonuclease VIII 的 N-糖基化酶活性能切下并释放双链 DNA 上受损的嘧啶碱基(Pyrimidines)从而产生一个脱嘌呤(Apurinic, AP)位点; Endonuclease VIII 的 AP 裂解酶活性,可以切割 AP 位点的 3'和 5'端,从而切除 AP 位点,产生一个具有 3'和 5'磷酸的碱基缺口(Gap)。可以被 Endonuclease VIII 识别并切除的受损碱基包括: Urea、5,6-dihydroxythymine (5,6-二羟基胸腺嘧啶)、Thymine glycol (胸腺嘧啶乙二醇)、5-hydroxy-5-methylhydantoin (5-羟基-5-甲内酰脲)、Uracilglycol (尿嘧啶乙二醇)、6-hydroxy-5,6-dihydrothymine(6-羟基-5,6-二氢胸腺嘧啶)和 Methyltartronylurea (甲基羟丙二酰脲)。虽然 Endonuclease VIII 与 Endonuclease III 相似,但 Endonuclease VIII 具有β和δ裂解酶活性,而 Endonuclease III 仅具有β裂解酶活性。

组分和说明

E745665	Component	1KU	5×1KU	20×1KU	Storage
E745665A	Endonuclease VIII (10U/μl)	100μl	5×100μl	20×100μl	-20℃. Avoid freeze/thaw cycle.
E745665B	10X Endonuclease VIII Buffer	0.4mL	5×0.4mL	20×0.4mL	-20℃. Avoid freeze/thaw cycle.

产品应用

可用于 DNA 损伤和修复研究; 单细胞凝胶电泳; 碱洗脱; 碱解螺旋; 识别并切除双链 DNA 上受损的嘧啶碱基; 切割 AP 位点的 3'和 5'端而产生一个具有 3'和 5'磷酸的碱基缺口 (Gap)。

产品优势

高效的 DNA 损伤修复能力, 广泛的应用场景, 高纯度和稳定性。

使用说明

1.使用 Endonuclease VIII 切除双链 DNA 中的 AP 位点。

a.双链 DNA 的制备：使用 Annealing Buffer for DNA Oligos (5X)使单链 DNA (中间含有一个或多个脱氧尿嘧啶碱基)和其互补链 DNA (中间不含有脱氧尿嘧啶碱基)退火形成双链 DNA。

b.含 AP 位点双链 DNA 的制备：使用 Uracil-DNA Glycosylase (E. coli)/Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Bacterium)/Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod)处理退火双链 DNA，生成含有 AP 位点的双链 DNA。

c.切除双链 DNA 中的含 AP 位点的：

(a)参考下表在冰浴中配制反应体系。

Component	Volume
Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	15µl
10X Endonuclease VIII Buffer	2µl
dsDNA with AP site (10µM/µl)	2µl
Endonuclease VIII (10U/µl)	1µl

注：请把除 Endonuclease VIII 以外的组分充分混匀后再加入 Endonuclease VIII，加入 Endonuclease VIII 后可以用移液器吹打混匀。

如果待酶切 DNA 量较大，可以适当延长酶切时间或按比例放大酶切体系。

(b) 反应条件：37℃，30 分钟。

(c) 终止反应：75℃加热 10 分钟，或者冰浴孵育 1-2 分钟并加入 2X RNA Loading Buffer 。

注意事项

(1) 本产品中在使用时宜存放在冰盒内或冰浴上，使用完毕后宜立即放置于-20℃保存。

(2) 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

(3) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。