

Endonuclease VIII

产品编号	产品名称	包装
D6781S	Endonuclease VIII	1kU
D6781M	Endonuclease VIII	5kU
D6781L	Endonuclease VIII	20kU

产品简介:

- 碧云天生产的Endonuclease VIII, 即核酸内切酶VIII, 来自大肠杆菌, 是由碧云天自主研发的PerfectProtein™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)、Uracil glycol (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) [1,2]。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。
- 本产品识别并切除双链DNA上受损碱基的原理请参考图1。

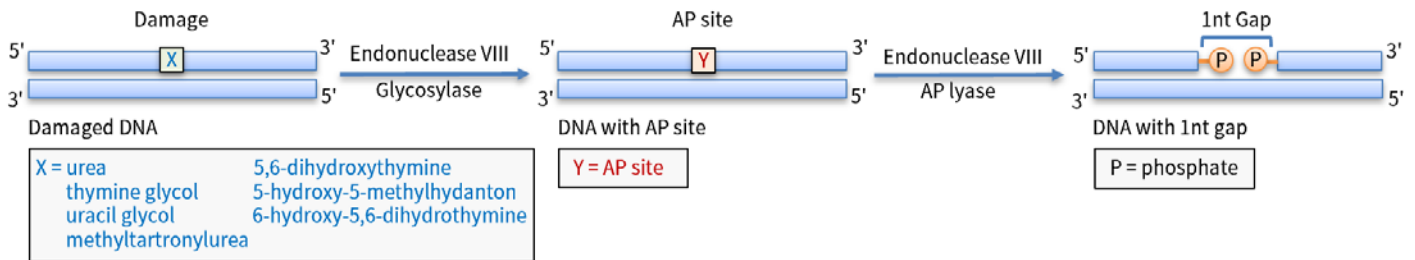


图1. Endonuclease VIII识别并切除双链DNA上受损碱基的示意图。Endonuclease VIII识别双链DNA上受损碱基并在其N-糖基化酶活性作用下切除双链DNA上受损的嘧啶碱基, 产生一个脱嘌呤(AP)位点; 随后在其AP裂解酶活性作用下切割AP位点的3'和5'端切除AP位点, 产生一个具有3'和5'磷酸的碱基缺口。

- 碧云天生产的Endonuclease VIII催化酶切含AP位点双链DNA的效果请参考图2。

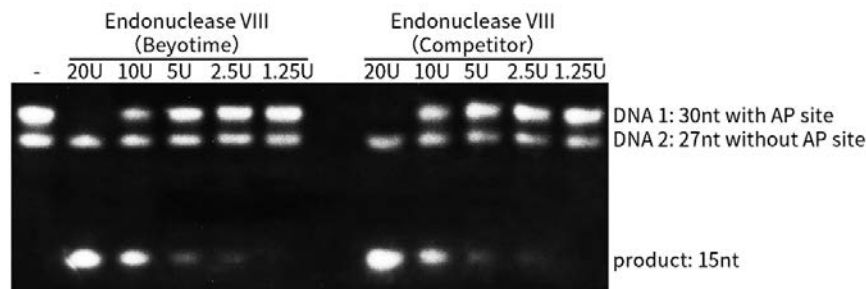


图2. 碧云天生产的Endonuclease VIII (D6781)和国外N公司的同类产品(Competitor)催化切除含AP位点双链DNA的效果图。在20μl反应体系中加入图中指定量的本产品或N公司的Endonuclease VIII, 37°C孵育30分钟进行损伤位点切除反应, 反应完毕后立即放置至冰上, 并加入2X RNA Loading Buffer (R0215), 随后用BeyoGel™ TBE-Urea PAGE预制胶(15%) (R0243/R0244)进行电泳分析, 最终进行核酸染色和荧光成像分析。如图所示, 本产品与N公司的产品相比, 具有类似的催化效果。反应体系(20μl): 10mM Tris-HCl, 75mM NaCl, 1mM EDTA, pH 8 @ 25°C, 20pmol含AP位点的双链DNA以及不同浓度的Endonuclease VIII。含AP位点的双链DNA的制备方法: 将含dU碱基的DNA 1 (31nt)和正常的DNA 2 (27nt)按照Annealing Buffer for DNA Oligos (5X) (D0251)说明书中的使用方法通过梯度降温退火形成双链DNA; 随后使用Uracil-DNA Glycosylase (*E. coli*) (D7360)/Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Bacterium) (D7362)/Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod) (D7364)催化含尿嘧啶的DNA链中的尿嘧啶(dU)碱基和脱氧核糖之间的N-糖苷键发生水解, 从而释放游离尿嘧啶产生含AP位点的双链DNA。实际检测效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- **用途:** 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)。
- **来源:** 由大肠杆菌表达纯化而获得。
- **活性单位定义:** One unit is defined as the amount of enzyme required to cleave 1pmol of a 34 mer oligonucleotide duplex containing a single AP site in a total reaction volume of 10µl in 1 hour at 37°C in 1X Endonuclease VIII Reaction Buffer containing 10pmol of fluorescently labeled oligonucleotide duplex.
- **纯度:** 大于95%, 无DNA内切酶和其他外切酶活性, 无RNA酶活性。
- **酶储存溶液:** 10mM Tris-HCl (pH8 @ 25°C), 250mM NaCl, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 50% (v/v) Glycerol.
- **失活或抑制:** 75°C加热10分钟可使Endonuclease VIII失活。
- **10X Endonuclease VIII Buffer:** 100mM Tris-HCl, 750mM NaCl, 10mM EDTA, pH 8 @ 25°C.

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D6781S-1	Endonuclease VIII (10U/µl)	100µl
D6781S-2	10X Endonuclease VIII Buffer	0.4ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6781M-1	Endonuclease VIII (10U/µl)	500µl
D6781M-2	10X Endonuclease VIII Buffer	2ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6781L-1	Endonuclease VIII (10U/µl)	2ml
D6781L-2	10X Endonuclease VIII Buffer	8ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存, 至少两年有效。

注意事项:

- 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°C保存。
- 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。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 使用Endonuclease VIII切除双链DNA中的AP位点。

- 双链DNA的制备: 使用碧云天Annealing Buffer for DNA Oligos (5X) (D0251)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。
- 含AP位点双链DNA的制备: 使用碧云天Uracil-DNA Glycosylase (*E.coli*) (D7360)/Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Bacterium) (D7362)/Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod) (D7364)处理退火双链DNA, 生成含有AP位点的双链DNA。
- 切除双链DNA中的含AP位点的:
 - 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°C, 30分钟。

(c) 终止反应: 75°C加热10分钟, 或者冰浴孵育1-2分钟并加入2X RNA Loading Buffer (R0215)。

2. 其它应用请参考相关文献进行。

参考文献:

- Dizdaroglu M, Laval J, Boiteux S. Biochemistry. 1993. 32(45):12105-12111.
- Hatahet Z, Kow YW, Purmal AA, Cunningham RP, Wallace SS. J Biol Chem. 1994. 269(29):18814-18820.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D0251	Annealing Buffer for DNA Oligos (5X)	1ml
D7360S	Uracil-DNA Glycosylase (<i>E. coli</i>)	1000U
D7360M	Uracil-DNA Glycosylase (<i>E. coli</i>)	5000U
D7362S	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Bacterium)	100U
D7362M	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Bacterium)	500U
D7364S	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod)	200U
D7364M	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod)	1000U
D7364L	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod)	5000U
D7359-1ml	dUTP (100mM)	1ml
D7359-250µl	dUTP (100mM)	250µl
D6781S	Endonuclease VIII	1kU
D6781M	Endonuclease VIII	5kU
D6781L	Endonuclease VIII	20kU
R0215-1ml	2X RNA Loading Buffer	1ml
ST876-100ml	BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	100ml
ST876-500ml	BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	500ml

Version 2022.10.18