

T4 Endonuclease V (T4 PDG)

产品编号	产品名称	包装
D6785S	T4 Endonuclease V (T4 PDG)	1kU
D6785M	T4 Endonuclease V (T4 PDG)	5kU
D6785L	T4 Endonuclease V (T4 PDG)	20kU

产品简介:

- 碧云天生产的T4 Endonuclease V (T4 PDG), 简称T4 Endo V, 也称T4 pyrimidine dimer glycosylase (T4 PDG), 中文名为T4核酸内切酶V, 也称T4嘧啶二聚体糖基化酶, 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。T4 Endonuclease V来源于T4噬菌体, 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。T4 Endonuclease V的N-糖基化酶活性可以识别由紫外辐射等引起的顺式环丁烷嘧啶(cis-syn cyclobutane pyrimidine)二聚体(包括T[^]T, T[^]C, C[^]C), 并且在嘧啶二聚体的5'-糖苷键处进行酶切产生一个脱嘧啶(Apyrimidinic, AP)位点; T4 Endonuclease V的AP裂解酶活性通过β消除作用(β-elimination)切除AP位点, 且产生一个具有3'-α,β-不饱和醛和5'-磷酸的碱基缺口(Gap) [1,2]。
- 本产品识别并切除双链DNA上受损碱基的原理请参考图1。

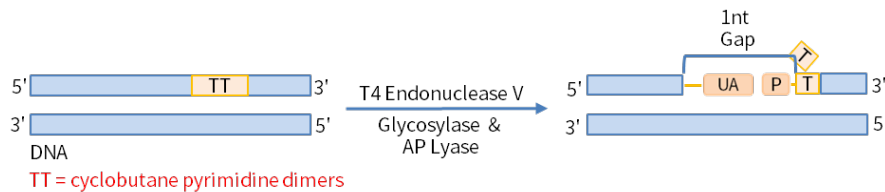


图1. 碧云天T4 Endonuclease V (D6785)识别并切除双链DNA上受损碱基的示意图。T4 Endonuclease V在其N-糖基化酶活性作用下识别并切除双链DNA中由紫外辐射等引起的顺式环丁烷嘧啶二聚体(包括T[^]T, T[^]C, C[^]C), 产生一个AP位点; 随后其AP裂解酶活性通过β消除作用切除AP位点, 且产生一个具有3'-α,β-不饱和醛和5'磷酸的碱基缺口(Gap)。

- 碧云天生产的T4 Endonuclease V催化酶切含AP位点双链DNA的效果请参考图2。

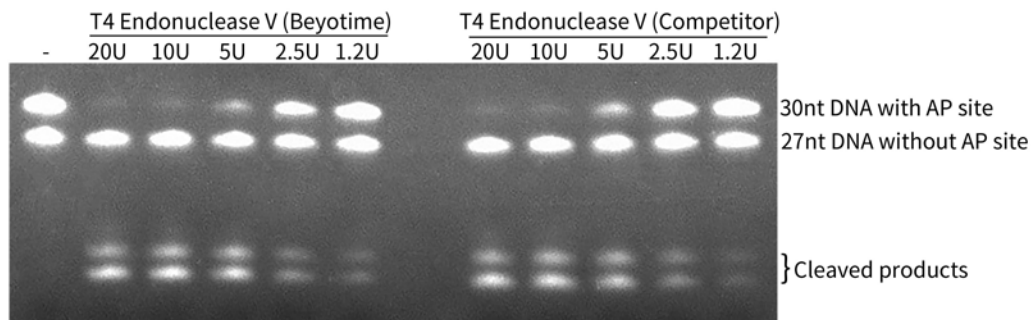


图2. 碧云天生产的T4 Endonuclease V (D6785)和国外N公司的同类产品(Competitor)催化切除含AP位点双链DNA效果图。在20μl反应体系中加入图中指定量的本产品或N公司的T4 Endonuclease V, 37°C孵育30分钟进行损伤位点切除反应, 反应完毕后立即放至冰上, 并加入DNA/RNA Loading Buffer (2X, for Denaturing PAGE) (R0212), 随后用BeyoGel™ TBE-Urea PAGE预制胶(15%) (R0243/R0244)进行电泳分析, 最终进行核酸染色和荧光成像分析。如图所示, 本产品与N公司的产品相比, 具有类似的催化效果。反应体系(20μl): 100mM NaCl, 1mM EDTA, 1mM DTT, 25mM Na₂HPO₄, pH 7.2 @ 25°C, 20pmol含AP位点的双链DNA以及不同浓度的T4 Endonuclease V。含AP位点的双链DNA制备方法: 将含dU碱基的31nt单链DNA和正常的与其互补的27nt单链DNA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)或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, 最终可以被T4 Endonuclease V所识别和酶切。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损伤研究; 单细胞凝胶电泳(Single cell gel electrophoresis)。
- 来源:** 由大肠杆菌表达, 经纯化而获得。

- **活性单位定义:** One unit is defined as the amount of enzyme that catalyzes the conversion of 0.5µg of UV irradiated supercoiled pUC19 DNA to > 95% nicked plasmid in a total reaction volume of 20µl in 30 minutes at 37°C. Nicking is assessed by agarose gel electrophoresis. Irradiated plasmid contains an average of 3-5 pyrimidine dimers.
- **纯度:** 大于95%，无其自身之外的DNA内切酶活性和外切酶活性，无RNA酶活性。
- **酶储存溶液:** 10mM Tris-HCl (pH7.4 @ 25°C), 250mM NaCl, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 50% (v/v) Glycerol, 0.15% Triton X-100.
- **失活或抑制:** 65°C 10分钟。
- **10X T4 Endonuclease V Buffer:** 250mM Na₂HPO₄ (pH7.2 @ 25°C), 1M NaCl, 10mM EDTA, 10mM DTT.

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D6785S-1	T4 Endonuclease V (10U/µl)	100µl
D6785S-2	10X T4 Endonuclease V Buffer	0.4ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6785M-1	T4 Endonuclease V (10U/µl)	500µl
D6785M-2	10X T4 Endonuclease V Buffer	2ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6785L-1	T4 Endonuclease V (10U/µl)	2ml
D6785L-2	10X T4 Endonuclease V 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T4 Endonuclease V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)使一种单链DNA (中间含有一个或多个脱氧尿嘧啶碱基dU)和其互补的单链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)或Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile,Cod) (D7364)处理上一步骤中退火的双链DNA，生成含有AP位点的双链DNA。
- 切除双链DNA中的AP位点:
 - 参考下表在冰浴中配制反应体系。

Component	Volume
Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	15µl
10X T4 Endonuclease V Buffer	2µl
dsDNA with AP site (10µM/µl)	2µl
T4 Endonuclease V (10U/µl)	1µl

注: 请把除T4 Endonuclease V以外的组分充分混匀后再加入T4 Endonuclease V，加入T4 Endonuclease V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: 65°C加热10分钟, 或冰浴孵育1-2分钟并加入DNA/RNA Loading Buffer (2X, for Denaturing PAGE) (R0212)。

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
D6781S	Endonuclease VIII	1KU
D6781M	Endonuclease VIII	5KU
D6781L	Endonuclease VIII	20KU
D6783S	Endonuclease IV	500U
D6783M	Endonuclease IV	2kU
D6783L	Endonuclease IV	10kU
D6785S	T4 Endonuclease V	1kU
D6785M	T4 Endonuclease V	5kU
D6785L	T4 Endonuclease V	20kU
D7359-250µl	dUTP (100mM)	250µl
D7359-1ml	dUTP (100mM)	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
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 2023.12.04