Thermostable 内切核酸酶 TnendoV 目录号：AE1166 使用前请仔细阅读说明书

产品说明

核酸内切酶 V 也称为脱氧次黄嘌呤 3′内切酶，是一种 DNA 修复酶，识别 DNA 中的脱氧次黄嘌呤（dI）碱基的双链（无论配对与否）或单链 DNA，即腺嘌呤的脱氨基产物，并在 dI 的 3’端的第一、二个磷酸二酯键切断 DNA 链，产生一个 3′ 羟基、5′ 磷酸的切口。也可识别 RNA 中的次黄嘌呤碱基 I，并在 I 碱基下游第一、二个磷酸二酯键切断 RNA 链。也可识别含脱碱基（AP）位点或尿素、碱基错配、插入/缺失错配、发夹结构、未配对 loop 环、折叠 flaps 和类-Y 型结构的 DNA，但是识别后者的能力不如前者。最新报导表明内切核酸酶 V 还可以识别 RNA 中的次黄嘌呤碱基（I），并主要在 I 碱基 3’端的第二个磷酸二酯键切断 RNA 链。

本公司耐热内切核酸酶 V 来自嗜高温微生物 T. neapolitana，经重组表达，多步纯化制备的重组蛋白。

活性定义

1 单位指在温度为 55℃，1×内切核酸酶 V 应缓冲体系的条件下，60 min 内切割 1 pmol 含单一脱氧次黄嘌呤核苷位点的 34 bp 寡核苷酸双链所需的酶量。

活性测定条件

AM Buffer D，55℃ 温育。

含脱氧次黄嘌呤底物的制备：合成中间掺入了脱氧次黄嘌呤（dI）碱基的 34 nt 寡核苷酸单链，与互补单链（与 dI 配对碱基为 T）退火配成双链寡核苷酸。

浓度：10U/μl

保存条件：-20℃保存

特点

- 高温酶，在 30-85℃均有活性
- 活性高于 T. maritima 的 endoV
- 耐受高浓度 dNTP，耐受能力高于 T. maritima 的 endoV
- 热失活：加入终浓度 0.2N 的 NaOH，95℃ 加热 5min。或酚氯仿抽提。

适用范围

- 切割含脱氧次黄嘌呤碱基的 DNA 寡核苷酸
- 切割含次黄嘌呤碱基的 RNA 寡核苷酸
- 错配碱基对的切割，但结合力与切割活性很弱（相比次黄嘌呤碱基）

产品包装规格及组成

Component	AE1166A	AE1166B
Thermostable 内切核酸酶 TnendoV	200U	1kU
10× AM Buffer D	0.2ml	1.0ml

质量控制

相关测试表明无外源内切、外切脱氧核糖核酸酶、RNase 污染。PCR 方法检测无宿主残余 DNA。

酶贮存缓冲液

10 mM Tris-HCl，250 mM NaCl，1 mM DTT，0.1 mM EDTA，200 μg/ml BSA，0.15% Triton® X-100，50% Glycerol，pH 8.0 @ 25°C。

注意事项

- 内切酶 V 在 AM buffer A、B、D2 中具有 100%活性，在 AM buffer C 中只有 75%活性。
- 热碱处理失活酶的情况下，若碱影响下游实验，需要加入等量的 HCl 对碱进行中和。

应用举例

切断单链或双链DNA中dI碱基下游的磷酸二酯键

1）按如下表格配制反应液

反应组份	体积/μl	终浓度
10×Buffer	2	1×
含I碱基的单链或双链DNA	1-2	5pmole
TnendoV（10U/μl）	1.0	10U
ddH2O	Variable	/
总体积	20	/

2）55-65℃ 反应 30-60min。

3）8M 尿素变性 PAGE 电泳检测切割效果

警告：本产品仅限科研实验使用，临床应用安全性和有效性未鉴定，不可用于医疗临床诊断。