

Fpg (Formamidopyrimidine DNA Glycosylase)

产品编号	产品名称	包装
D6926S	Fpg (Formamidopyrimidine DNA Glycosylase)	400U
D6926M	Fpg (Formamidopyrimidine DNA Glycosylase)	2kU
D6926L	Fpg (Formamidopyrimidine DNA Glycosylase)	8kU

产品简介:

- 碧云天生产的Fpg (Formamidopyrimidine DNA glycosylase), 即甲酰胺嘧啶-DNA糖基化酶, 也被称作8-氧代鸟嘌呤DNA糖基酶(8-Oxoguanine DNA glycosylase), 是一种DNA损伤修复酶, 可识别并切除嘌呤受损碱基。该酶具有N-糖基化酶活性, 可以切下并释放双链DNA上受损的嘌呤碱基(Purine), 并产生一个脱嘌呤(Apurinic, AP)位点; 同时也具有脱嘌呤位点裂解酶(AP-裂解酶)活性, 可以切割AP位点的3'和5'端, 因此可以除去AP位点, 从而产生一个具有3'和5'磷酸的碱基缺口(Gap)。
- Fpg可以识别并切除的受损碱基包括: 7,8-dihydro-8-oxoguanine (8-oxoguanine) (7,8-二羟基-8-氧代鸟嘌呤(8-氧代鸟嘌呤))、8-oxoadenine (8-羟基腺嘌呤)、fapy-guanine (fapy-鸟嘌呤)、methy-fapy-guanine (甲基-fapy-鸟嘌呤)、fapy-adenine (fapy-腺嘌呤)、aflatoxin B1-fapy-guanine (黄曲霉毒素B1-fapy-鸟嘌呤), 以及5-hydroxy-cytosine (5-羟基-胞嘧啶)和5-hydroxy-uracil (5-羟基尿嘧啶)等。
- DNA损伤根据其来源分为内源性和外源性两大类。大部分内源性DNA损伤来自于细胞内DNA与活性氧进行反应。外源性DNA损伤来自于环境、物理和化学因素, 包括紫外线、电离辐射、烷基化试剂、交联剂。
- 本产品识别并切除双链DNA上受损碱基的原理请参考图1。

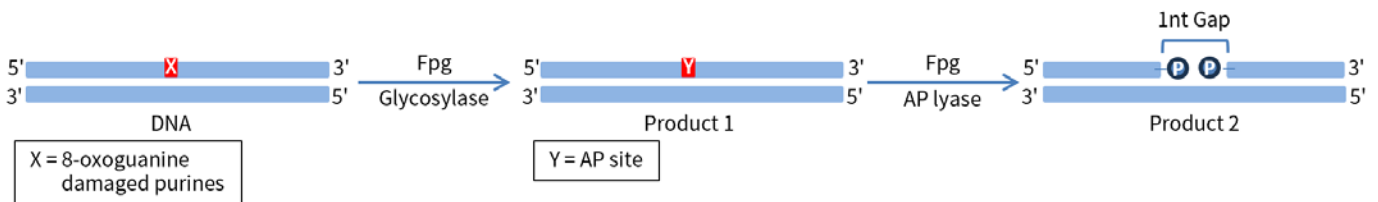


图1. 碧云天生产的Fpg识别并切除双链DNA上受损碱基的示意图。首先, Fpg识别双链DNA上受损碱基并在其N-端糖基化酶(Glycosylase)活性作用下切下双链DNA上受损的嘌呤碱基, 产生一个脱嘌呤(Apurinic, AP)位点, 随后在其AP-裂解酶(AP lyase)活性作用下切割AP位点的3'和5'端除去AP位点, 产生一个具有3'和5'磷酸的单碱基缺口(1nt Gap)。

- 本产品催化酶切含AP位点双链DNA的效果请参考图2。

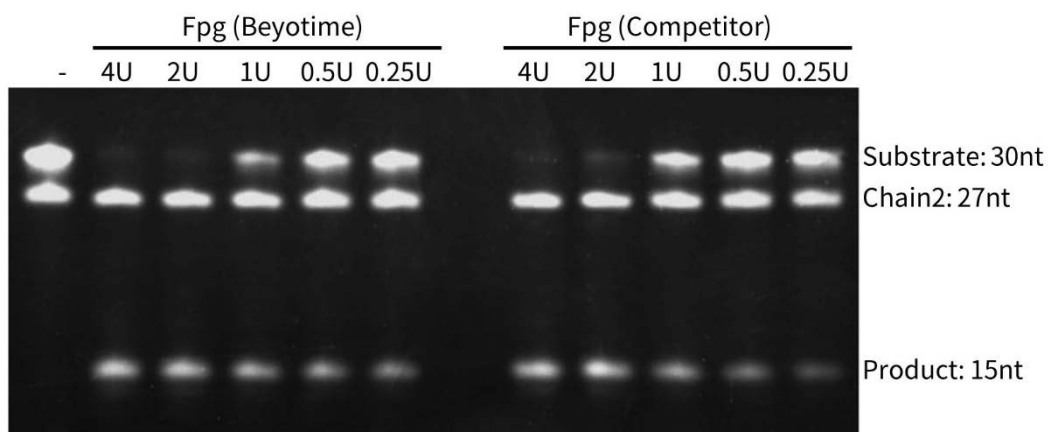


图2. 碧云天生产的Fpg (D6926)和国外N公司的同类产品催化酶切含AP位点双链DNA的效果图。在20 μ l反应体系中加入图中指定量的本产品或N公司的Fpg, 37 $^{\circ}$ C孵育10分钟进行裂解反应, 反应完毕后立即放至冰上并加入DNA/RNA Loading Buffer (2X, for Denaturing PAGE) (R0212), 随后用尿素(7M)变性聚丙烯酰胺凝胶(15%)进行电泳分析, 最终进行核酸染色和荧光成像分析。如图所示, 本产品与N公司的产品相比, 具有类似的催化效果。裂解反应体系(20 μ l): 10mM Bis-Tris-Propane-HCl, 10mM MgCl₂, 1mM DTT (pH 7 @ 25 $^{\circ}$ C), 100 μ g/ml BSA, 20pmol含AP位点的双链DNA以及1 μ l不同浓度的Fpg。含AP位点的双链DNA的制备方法: 将第16个碱基为dU的DNA 1 (31nt)和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)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。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,图中效果仅供参考。

- **用途:** DNA损伤和修复研究,单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism, SNP)分析,单细胞凝胶电泳(彗星电泳)。
- **来源:** 大肠杆菌表达的重组蛋白,表达基因为*fpg*基因。
- **活性单位定义:** One unit is defined as the amount of enzyme required to cleave 10pmol of a 34-mer oligonucleotide duplex containing a single 8-oxoguanine base paired with a cytosine in a total reaction volume of 10 μ l in 1 hour at 37 $^{\circ}$ C.
- **纯度:** 无其它DNA内切酶和外切酶活性,无RNA酶活性。
- **酶储存溶液:** 20mM Tris-HCl (pH 8 @ 25 $^{\circ}$ C), 300mM NaCl, 0.5mM EDTA, 1mM DTT, 200 μ g/ml BSA, 50% (v/v) Glycerol.
- **热失活:** 60 $^{\circ}$ C加热10分钟可使Fpg失活。
- **10X Fpg Buffer:** 100mM Bis-Tris-Propane-HCl, 100mM MgCl₂, 10mM DTT, pH 7 @ 25 $^{\circ}$ C.
- Fpg (8U/ μ l)的蛋白浓度通常不低于0.35mg/ml,小中大包装提供的Fpg的蛋白量通常不少于17.5、87.5和350 μ g。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D6926S-1	Fpg (8U/ μ l)	50 μ l
D6926S-2	10X Fpg Buffer	200 μ l
D6926S-3	1mg/ml BSA	100 μ l
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6926M-1	Fpg (8U/ μ l)	250 μ l
D6926M-2	10X Fpg Buffer	1ml
D6926M-3	1mg/ml BSA	500 μ l
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6926L-1	Fpg (8U/ μ l)	1ml
D6926L-2	10X Fpg Buffer	2ml
D6926L-3	1mg/ml BSA	2ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20 $^{\circ}$ C保存,两年有效。

注意事项:

- 酶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 $^{\circ}$ C保存。
- 超纯水推荐使用BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile) (ST876)。
- 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Fpg裂解含AP位点的双链DNA。

- a. 双链DNA的制备: 使用碧云天Annealing Buffer for DNA Oligos (5X) (D0251)使单链DNA 31nt (中间第16个碱基为脱氧尿嘧啶)和其互补链DNA 27nt (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)处理上一步骤退火的双链DNA,生成含有AP位点的双链DNA。
- c. Fpg裂解含AP位点的双链DNA。
 - (a) 参考下表在冰浴中配制如下反应体系。

Components	Volume
dsDNA with AP site (10 μ M)	2 μ l
Ultrapure Water	15 μ l
10X Fpg Buffer	2 μ l
1mg/ml BSA	2 μ l
Fpg (8U/ μ l)	1 μ l

注：请把除Fpg以外的组分充分混匀后再加入Fpg，加入Fpg后可以用移液器吹打混匀。酶切DNA量较大时，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，10分钟。

(c) 终止反应：冰浴中孵育3-5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。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D7360S	Uracil-DNA Glycosylase (E. coli)	1000U
D7360M	Uracil-DNA Glycosylase (E. coli)	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

Version 2024.08.25