

产品组分

组分名称	组分目录号	浓度	规格-1 4,000 U
Thermostable Mismatch Endonuclease I	RM20571	80,000 U/mL	50 µL
10X Buffer CutB	RM20105	10X	1.25 mL

产品说明

Thermostable Mismatch Endonuclease I 是一种依赖 Mg^{2+} 的 DNA 核酸内切酶, 可特异切割错配碱基对 (T/T、T/G、T/C、G/G 和 A/G 错配)。该酶在 DNA 双链上错配碱基 5' 端的第 3 个磷酸二酯键处切割, 切割后产生 5 bp 粘性末端。

保存温度

-20°C, 避免反复冻融

产品来源

Thermostable Mismatch Endonuclease I 在 *E.coli* 中重组表达并经多步纯化精制而成。

活性定义

1 活性单位(U): 在 20 µL, 1X Buffer CutB 反应体系中, 55°C 条件下, 30 min 切割 50% 的 0.2 pmol 含单个 T:T 错配荧光标记的 60 mer 双链寡核苷酸所需的酶量。

反应条件

1X Buffer CutB, 55°C 反应

1X Buffer CutB 组成

10 mM Tris-HCl, 50 mM NaCl, 10 mM $MgCl_2$, 100 µg/mL Recombinant Albumin, pH 7.9 @ 25°C

酶储存液

10 mM Tris-HCl, 500 mM NaCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50 % Glycerol, pH 7.4 @ 25°C

热失活

否

操作说明

1. 冰上配置如下反应体系, 酶最后添加, 轻柔混匀后瞬时离心。

组分	使用量
10X Buffer CutB	5 µL(1X)
Substrate (Mismatch- containing DNA)	to 8 pmol
Thermostable Mismatch Endonuclease I	1 µL(80 units)
Nuclease-Free-Water	Up to 50 µL

2. 55°C 反应 30 min。

3. 加入 EDTA 至终浓度为 25 mM 终止反应。

注意事项

- 1、反应温度越高活性越强。
- 2、对于需要更精确的结果或部分消化酶解反应，推荐酶与底物的滴定来确定具体投量，也可进行调整温度和反应时间来确定。