

Инструкция по применению



Genta Fpg

Формаимидопиримидин-ДНК-гликозилаза

Версия 1 от 30.03.2024

1. ОПИСАНИЕ

Genta Fpg представляет собой рекомбинантный аналог фермента формаимидопиримидин-ДНК-гликозилазы (8-оксогуанин-ДНК-гликозилаза, Фару-ДНК-гликозилаза, mutM). Данный фермент относится к системе эксцизионной репарации ДНК и проявляет бифункциональную активность как N-гликозилаза и АП-лиаза. Действуя как N-гликозилаза, формаимидопиримидин-ДНК-гликозилаза выщепляет поврежденное гетероциклическое основание из двухцепочечной ДНК, образуя таким образом апуриновый сайт (АП-сайт). Затем, действуя как АП-лиаза, фермент расщепляет получившийся АП-сайт посредством реакции бета-элиминирования, в результате чего высвобождается остаток дезоксирибозы поврежденного нуклеотида, а в ДНК образуется однонуклеотидная брешь (Gap), фланкированная 3'- и 5'-концевыми фосфатными группами. Формаимидопиримидин-ДНК-гликозилаза катализирует удаление широкого спектра модифицированных пуринов, таких как формаимидопиримидин (фару), 7,8-дигидро-8-оксогуанин (8-оксогуанин), 8-оксоаденин, фару-гуанин, метил-фару-гуанин, фару-аденин, афлатоксин В1- фару-гуанин, 5-гидроксицитозин и 5-гидроксиурацил.



Рисунок 1. Схема работы формаимидопиримидин-ДНК-гликозилазы:

Genta Fpg выделена из штамма *Escherichia coli*, экспрессирующего клонированный ген формаимидопиримидин ДНК-гликозилазы *E. coli*.

Фермент проявляет максимальную активность при температуре 37°C. Фермент полностью инактивируется путем прогрева при 65°C в течение 10 минут.



Инструкция
Genta Fpg формаидопиримидин-ДНК-
гликозилаза

Версия 1
от 30.03.2024
Стр 2

2. СОСТАВ

| Компоненты | RP-E-030-S | RP-E-030-L | RP-E-030-X (под заказ) |
|-------------------------|-------------|-------------|---------------------------|
| Genta FPG, 8 000 ед./мл | 1 x 0,1 мл | 5 x 0,1 мл | XXX мл |
| 5x Genta FPG-буфер | 1 x 1,25 мл | 2 x 1,25 мл | --- |
| 100x БСА | 1 x 0,1 мл | 1 x 0,1 мл | --- |

3. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

- Одноклеточный гель-электрофорез
- Исследование повреждений и репарации ДНК
- SNP-анализ

4. ЕДИНИЦЫ АКТИВНОСТИ

Одна единица активности соответствует количеству фермента, необходимому для расщепления 10 пмоль 39-звенного олигонуклеотидного дуплекса, содержащего единичную вставку 8-оксогуанина, за 60 мин при 37°C в 10 мкл реакционной смеси.

5. БУФЕР ДЛЯ ХРАНЕНИЯ

20 mM Трис/НСl (рН 8,0 при 25°C); 50 mM NaCl; 1 mM ДТТ; 0,5 mM ЭДТА; 0,2 мг/мл БСА; 50% глицерин

6. БУФЕР ДЛЯ РЕАКЦИИ (1X Genta FPG-буфер)

50 mM Трис-НСl (рН 8,3 при 25°C); 1 mM ДТТ; 5 mM MgCl₂

7. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ

Условия проведения реакции: 1x Genta FPG-буфер + 1x БСА + 8 - 16 ед. Genta FPG. Инкубация 30-60 мин при 37°C.

Термоинаktivация Genta FPG: 10 минут при 65°C.



Инструкция
**Genta Fpg формаимидопиримидин-ДНК-
гликозилаза**

Версия 1
от 30.03.2024
Стр 3

8. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ И ХРАНЕНИЯ

Температура хранения: - 20°C.

Условия транспортировки: в термоконтейнере с хладоэлементами, при температуре от 2°C до 8°C не более 7 суток.

Срок хранения при соблюдении условий хранения и транспортировки: 24 месяца с момента производства.



Инструкция
Genta Fpg формаидопиримидин-ДНК-
гликозилаза

Версия 1
от 30.03.2024
Стр 4

СЕРТИФИКАТ КАЧЕСТВА

✓ **Чистота белка (SDS-ПААГ)**

Чистота препарата белка составляет более 95% по результатам анализа методом геле-электрофореза в ДСН-ПААГ с последующим окрашиванием Coomassie Brilliant Blue.

✓ **РНКазная активность**

Инкубация 16 ед. фермента с 50 нг флуоресцентно меченного РНК-субстрата при 37°C в течение 1 часа не приводит к разгоранию флуоресценции.

✓ **Функциональное тестирование**

Расщепление 39-звенного олигонуклеотидного дуплекса, содержащего единичную вставку 8-оксогуанина.

Уважаемый Пользователь!

Благодарим Вас за выбор продукта от АО «ГенТерра»!

Если у Вас есть рекомендации по улучшению данного продукта или пожелания по расширению нашей линейки продукции, мы будем Вам признательны, если вы предоставите нам обратную связь по адресу info@genterra.ru