

产品说明

热稳定核酸内切酶 IV 来源于嗜热细菌，为脱嘌呤/脱嘧啶（AP）位点特异性的核酸内切酶。该酶切割 AP 位点 5' 端的第一个磷酸二酯键，产生 3' 羟基和 5' 脱氧核糖磷酸末端。除天然的 AP 位点外，各种人工合成的 Spacer 分子也能够被内切核酸酶 IV 有效切割，包括 THF、Spacer C3、Spacer C12、Spacer 9，Spacer 18 等。该酶也具有 3' 二酯酶活性，能从 DNA 的 3' 末端释放磷酸甘油醛（phosphoglycoaldehyde）、 α,β -不饱和醛（ α,β -unsaturated aldehydes）、3'-磷酸、其它 3' blocking groups。该酶还能够作用于 DNA 分子上的几种氧化性损伤，水解氧化损伤碱基的 5' 端第一个磷酸二酯键。另外，该酶还具有 3'-5' 的外切酶活性。酶活性受到金属离子、DTT、EDTA 等的影响，优先作用于 3' 凹末端的双链 DNA。

本公司热稳定核酸内切酶 IV 是在大肠杆菌中重组表达，并亲和纯化的重组蛋白。

活性定义

1 单位指在 65°C 条件下，1 小时能切割 1 pmol 含一个 AP 位点的 34 bp 荧光标记的寡核苷酸双链所需要的酶量。

AP 位点的制备方法如下：37°C 条件下，用 1U 尿嘧啶-DNA 糖基化酶（UDG）处理 10 pmol 含一个尿嘧啶碱基的 34 bp 寡核苷酸双链 2 分钟。

活性测定：

1× AM Buffer E: 10 mM KCl, 20 mM Tris-HCl, 10 mM (NH₄)₂SO₄, 2 mM MgSO₄, 0.1% Triton X-100 (pH 8.8 @ 25°C), 65°C 温育。

浓度：10U/μl

保存条件：-20°C 保存

特点

- 具有很好的热稳定性，可以在 65-75°C 反应；
- 在多种反应体系中均有活性。

适用范围

- 与高温 UDG 一起改善高忠实性 DNA 聚合酶 PCR 扩增性能
- 单细胞凝胶电泳（彗星试验）；
- 切断合成的寡核苷酸中各种 Spacer，例如，Spacer C3，Spacer C18，Spacer 9 等；
- 修复损伤的 DNA。

产品包装规格及组成

Component	AE1142A	AE1142B
Tth 内切核酸酶 IV	500U	2.5kU
10×AM BufferE	0.2ml	1ml

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

20 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50% Glycerol, pH 8.0 @ 25°C。

注意事项

- 该酶的最佳反应温度为 65-70°C。该酶与 PCR 反应条件兼容。
- 彗星试验的推荐稀释度：1:10⁴-1:10⁵。

- Endo IV 最佳缓冲液为 1× AM Buffer C。该酶在 AM Buffer B 中的活性为 100%，在 AM BufferD2 缓冲液中的活性为 25%。不建议在 AM BufferA 中使用 Endo IV。
- 本酶为高温酶，不能直接热失活。若需失活该酶可以进行酚氯仿抽提，或加入终浓度 50mM EDTA 并在 95℃ 加热 20 分钟。
- 本酶有高浓度包装（200U/ul），在用于改善 PCR 扩增效果时建议使用高浓度包装，且每个 PCR 反应加入量为 20-200U。
- 用于改善 PCR 扩增效果时，其原理如下：高温 UDG 切除 dU 碱基产生无碱基 AP 位点，高温内切核酸酶 IV 断裂 AP 位点，并由 DNA 聚合酶进行延伸，修复成全长 DNA 片段。
- 本酶活性随温度升高而增强，具体应用建议在不同温度下摸索酶具体用量。
- 酶稀释缓冲液: 100 mM KCl, 10 mM Tris-HCl (pH 7.4 @ 25°C), 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 0.1% Triton X-100 and 50% glycerol.

相关产品

AE1103: Thermostable UDG

应用举例

1、改善PCR扩增效果

1. 按如下表格配制 PCR 反应液

PCR 组份	体积/ μ l	终浓度
10×Pfu酶Buffer	5	1×
dNTPs (2.0 mM)	5	0.2 mM
引物F (10 μ M)	1.5	0.3 μ M
引物R (10 μ M)	1.5	0.3 μ M
Template	1-5	/
Pfu DNA聚合酶 (2U/ μ l)	0.5	1U
耐热UDG (2U/ μ l)	1.0	2U
Tth内切核酸酶IV (10U/ μ l)	1.0	10U
ddH2O	Variable	/
总体积	50	/

2. PCR 反应。

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。