

产品说明

核酸内切酶 IV 是一种脱嘌呤/脱嘧啶 (AP) 位点特异性的核酸内切酶, 在 DNA 上的完整 AP 位点的 5' 端第一个磷酸二酯键处切割 DNA, 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, 该外切酶活性弱于 AP 位点特异性的内切酶活性。

本公司超耐热内切核酸酶 IV 是重组表达, 并经多步纯化制备的重组蛋白。

活性定义

1 活性单位指在 65°C, AM Buffer C 中 1 小时切割 1 pmol 含一个 AP 位点的 34 mer 寡核苷酸双链所需要的酶量。

活性测定条件

AM Buffer C: 50 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 10 mM MgCl₂, 1 mM DTT (pH 7.9 @ 25°C), 37°C 温育。

AP 位点底物制备方法如下: 37°C 条件下, 用 1 单位尿嘧啶-DNA 糖苷酶 (UDG) 处理 10 pmol 含一个尿嘧啶碱基的 34 mer 寡核苷酸双链 2 分钟。

浓度: 10U/ul。

保存条件: -20°C 保存

特点与应用

- 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)
- DNA 损伤检测
- 切断 DNA 中的各种 Spacer

产品包装规格及组成

Component	AE1143A	AE1143B
超耐热内切核酸酶 IV	500U	2500U
10×AM Buffer C	0.2ml	1ml

质量控制

核酸内切酶 IV 经过严格的质控检测, 确保该产品具有最高的活性和纯度。

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 7.4 @ 25°C

注意事项

- 彗星试验的推荐稀释度: 1:10⁴ 至 1:10⁵。
- Endo IV 在 AM Buffer B 中活性为 100%, 在 AM Buffer D1 中活性为 25%。不建议在 AM Buffer A 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，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。

相关产品

AE1103: Thermostable UDG

应用举例

改善PCR扩增效果的使用方法

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
超耐热内切核酸酶IV(10U/u1)	1.0	10U
ddH2O	Variable	/
总体积	50	/

2. PCR 反应。

3. 电泳检测 PCR 扩增结果。

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。