

Endonuclease IV

产品编号	产品名称	包装
D6783S	Endonuclease IV	500U
D6783M	Endonuclease IV	2KU
D6783L	Endonuclease IV	10KU

产品简介:

- 碧云天生产的Endonuclease IV, 即核酸内切酶IV, 来自大肠杆菌, 是由碧云天自主研发的PerfectProtein™技术平台表达、纯化获得的重组内切酶。Endonuclease IV是一种DNA损伤修复酶, 并在多种DNA氧化性损伤(Oxidative damage)修复中发挥作用。该酶可识别双链DNA分子上的脱嘌呤/脱嘧啶(Apurinic/Apyrimidinic, AP)位点, 并切割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(5'-deoxyribose phosphate, dRP)末端; Endonuclease IV酶具有3'二酯酶(3'-diesterase)活性, 可以从受损双链DNA的3'末端释放磷酸乙醇酸(3'-phosphoglycolate)、3'- α , β -不饱和醛(unsaturated aldehyde)、磷酸乙醇醛(phosphoglycoaldehyde)或3'-磷酸等; Endonuclease IV酶还具有3'-5'外切酶活性, 其首选底物是具有3'-凹陷末端的双链DNA, 该活性对缓冲液离子强度、金属离子、EDTA和还原剂非常敏感; 这个酶的活性不需要Mg²⁺, 但Mg²⁺的加入可以提高酶活性; 体内Endonuclease IV酶可用于修复自由基对DNA链所造成的损伤 [1,2]。
- 本产品识别并切除双链DNA上受损碱基的原理请参考图1。

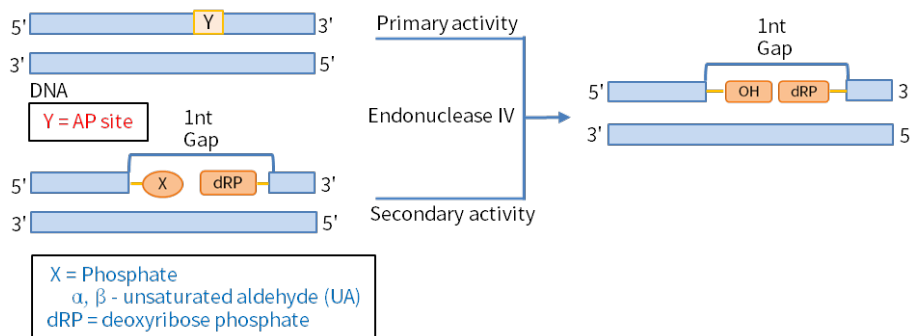


图1. 碧云天Endonuclease IV (D6783)识别并切除双链DNA上受损碱基的示意图。Endonuclease IV识别双链DNA分子上的AP位点, 并切割AP位点5'端的第一个磷酸二酯键, 产生3'羟基和5'脱氧核糖磷酸末端; 还具有3'二酯酶活性, 可以释放DNA的3'磷酸、3'- α , β -不饱和醛、磷酸甘油醛和其他3'封闭基团。

- 碧云天生产的Endonuclease IV (D6783)催化酶切含AP位点双链DNA的效果请参考图2。

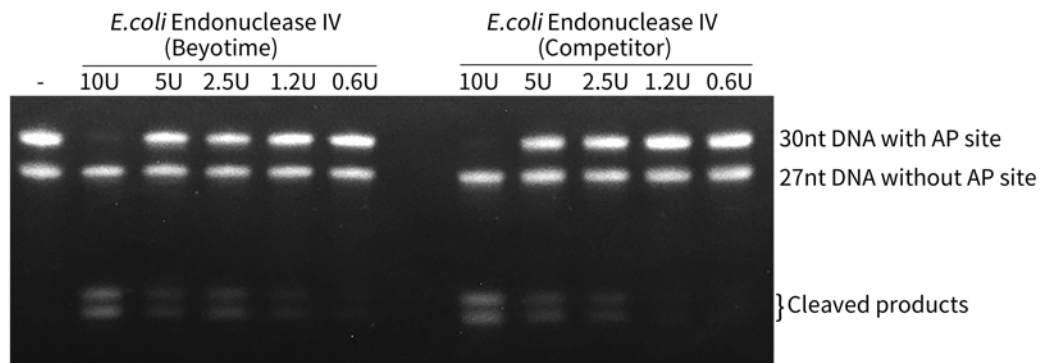


图2. 碧云天Endonuclease IV (D6783)和国外N公司的同类产品(Competitor)催化酶切含AP位点双链DNA的效果图。在20 μ l反应体系中加入图中指定量的本产品或N公司的Endonuclease IV, 37°C孵育30分钟进行损伤位点切除反应, 反应完毕后立即放至冰上, 并加入DNA/RNA Loading Buffer (2X, for Denaturing PAGE) (R0212), 随后用BeyoGel™ TBE-Urea PAGE预制胶(15%) (R0243/R0244)进行电泳分析, 最终进行核酸染色和荧光成像分析。如图所示, 本产品与N公司的产品相比, 具有类似的催化效果。反应体系(20 μ l): 50mM Tris-HCl, 100mM NaCl, 10mM MgCl₂, 1mM DTT (pH7.9 @ 25°C), 20pmol含AP位点的双链DNA以及不同浓度的Endonuclease IV。含AP位点的双链DNA的制备方法: 将含dU碱基的31nt单链DNA和正常的与其互补的27nt单链DNA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, 最终可以被Endonuclease IV所识别和酶切。实验检测表明: 碧云天Endonuclease IV (D6783)和国外N公司的同产品具有类似催化酶切含AP位点双链DNA的效果。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, 图中数据仅供参考。

- **用途:** 可用于DNA损伤、修复和DNA结构研究; 碱性洗脱(Alkaline elution); 碱性解旋(Alkaline unwinding); 单细胞凝胶电泳(Single cell gel electrophoresis); 单核苷酸多态性分析(Single nucleotide polymorphisms, SNP)。
- **来源:** 由大肠杆菌表达纯化而获得。
- **活性单位定义:** One unit is defined as the amount of enzyme required to cleave 1pmol of a 34-mer oligonucleotide duplex containing a single AP site in a total reaction volume of 10 μ l in 1 hour at 37 $^{\circ}$ C.
- **纯度:** 大于95%, 无除其本身以外的DNA内切酶活性和外切酶活性, 无RNA酶活性。
- **酶储存溶液:** 10mM Tris-HCl (pH7.4 @ 25 $^{\circ}$ C), 250mM NaCl, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 200 μ g/ μ l BSA, 50% (v/v) Glycerol, 0.15% Triton X-100.
- **失活或抑制:** 85 $^{\circ}$ C加热20分钟可使Endonuclease IV失活。
- **10X Endonuclease IV Buffer:** 500mM Tris-HCl (pH7.9 @ 25 $^{\circ}$ C), 1M NaCl, 10mM DTT, 100mM MgCl₂.

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D6783S-1	Endonuclease IV (10U/ μ l)	50 μ l
D6783S-2	10X Endonuclease IV Buffer	0.2ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6783M-1	Endonuclease IV (10U/ μ l)	200 μ l
D6783M-2	10X Endonuclease IV Buffer	0.8ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6783L-1	Endonuclease IV (10U/ μ l)	1ml
D6783L-2	10X Endonuclease IV Buffer	2.0ml \times 2
—	说明书	1份

保存条件:

-20 $^{\circ}$ C保存, 至少两年有效。

注意事项:

- 本产品中在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。
- 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Endonuclease IV切除双链DNA中的AP位点。

- a. 双链DNA的制备: 使用碧云天Annealing Buffer for DNA Oligos (5X) (D0251)使单链DNA (中间含有一个或多个脱氧尿嘧啶碱基dU)和其互补的单链DNA (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)处理上一步骤中退火的双链DNA, 生成含有AP位点的双链DNA。
- c. 酶切双链DNA中的AP位点:
 - (a) 参考下表在冰浴中配制反应体系。

Component	Volume
Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	15 μ l
10X Endonuclease IV Buffer	2 μ l
dsDNA with AP site (10 μ M/ μ l)	2 μ l
Endonuclease IV (10U/ μ l)	1 μ l

注: 请把除Endonuclease IV以外的组分充分混匀后再加入Endonuclease IV, 加入Endonuclease IV后可以用移液器吹打混匀。如果待酶切DNA量较大, 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 $^{\circ}$ C, 30分钟。

(c) 终止反应：85°C加热20分钟，或者冰浴中孵育1-2分钟并加入DNA/RNA Loading Buffer (2X, for Denaturing PAGE) (R0212)。

2. 其他应用请参考相关文献进行。

参考文献：

1. Kerins SM, Collins R, McCarthy TV. J Biol Chem. 2003. 278(5):3048-54.
2. Kong XJ, Wu S, Cen Y, Chen TT, Yu RQ, et al. Analyst. 2016. 141(14):4373-80.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D0251	Annealing Buffer for DNA Oligos (5X)	1ml
D6781S	Endonuclease VIII	1KU
D6781M	Endonuclease VIII	5KU
D6781L	Endonuclease VIII	20KU
D6783S	Endonuclease IV	500U
D6783M	Endonuclease IV	2KU
D6783L	Endonuclease IV	10KU
D6785S	T4 Endonuclease V	1kU
D6785M	T4 Endonuclease V	5kU
D6785L	T4 Endonuclease V	20kU
R0215-1ml	2X RNA Loading Buffer	1ml
D7359-1ml	dUTP (100mM)	1ml
D7360S	Uracil-DNA Glycosylase (<i>E. coli</i>)	1000U
D7360M	Uracil-DNA Glycosylase (<i>E. coli</i>)	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
ST876-100ml	BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	100ml
ST876-500ml	BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	500ml

Version 2023.12.04