

## 产品说明

Tte AP 热稳定核酸酶来源于嗜热温泉 *tengcongensis*, 该酶识别缺嘌呤/缺嘧啶位点 (Apurinic/aprimidinic) 核苷酸, 其内切酶活性将受损 DNA 损伤位点进行切断, 然后在其外切酶 (3'-5') 活性下去除受损 DNA 位点, 完成 DNA 的损伤修复。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)、 $\alpha,\beta$ -不饱和醛 ( $\alpha,\beta$ -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。Tte AP 热稳定核酸酶酶极其耐热, 最佳反应温度为 70°C。

本公司 Tte 核酸内切酶 IV 是重组表达, 并经多步纯化制备的重组蛋白。

## 活性定义

1 单位指在温度为 65°C 反应条件下, 60min 内能切割 1pmol 含一个 AP 位点的 34 mer 寡核苷酸双链所需的酶量。

## 活性测定条件

1×Tte AP Buffer: 20 mM Tris, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM DTT (pH 7.9 @ 25°C)

**浓度:** 10U/μl

**保存条件:** -20°C 可保存 2 年, 避免反复冻融

## 特点与适用范围

- 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)
- DNA 损伤修复与检测
- 切断 DNA 中的各种 Spacer

## 产品包装规格及组成

Component	AE1144A	AE1144B
Tte 核酸内切酶 IV	500U	2500U
1×Tte AP Buffer	0.2ml	1.0ml

## 质量控制

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

20 mM Tris-HCl, 150mM NaCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50% Glycerol, pH 8.0

## 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。
- 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°C 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。

## 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/ $\mu$ l	终浓度
10 $\times$ Pfu酶Buffer	5	1 $\times$
dNTPs (2.0 mM)	5	0.2 mM
引物F (10 $\mu$ M)	1.5	0.3 $\mu$ M
引物R (10 $\mu$ M)	1.5	0.3 $\mu$ M
Template	1-5	/
Pfu DNA聚合酶 (2U/ $\mu$ l)	0.5	1U
耐热UDG (2U/ $\mu$ l)	1.0	2U
Tte内切核酸酶IV (10U/ $\mu$ l)	1.0	10U
ddH2O	Variable	/
总体积	50	/

2. PCR 反应。

3. 电泳检测 PCR 扩增反应

**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。