

T5 Exonuclease T5 核酸外切酶

| 产品编号 | 产品名称 | 包装规格 |
|---------|-------------------------|---------------|
| NBS8246 | T5 Exonuclease T5 核酸外切酶 | 1000U(10U/μl) |

产品简介:

T5 Exonuclease 是一种核酸外切酶, 沿 5'→3'方向从双链或单链 DNA 的 5' 末端消化 DNA, 同时也可从线性或环状双链 DNA 的缺刻或缺口处对 DNA 进行消化。但 T5 Exonuclease 无法消化超螺旋 DNA, 此外, 当溶液中的 Mg^{2+} 浓度低于 1 mM 时, T5 Exonuclease 对单链 DNA 的消化活性也会受到抑制。因此, T5 Exonuclease 尤其适用于从质粒中降解线性化与缺刻质粒、去除连接产物中的非环状 DNA、无缝克隆(Gibson Assembly)等。

产品组成:

| 组分 | 规格 |
|--------------------------|--------|
| T5 Exonuclease (10 U/μl) | 100 μl |
| 10× Cut Buffer D | 1 ml |

保存条件:

-20℃保存, 2 年有效。

产品应用:

1. 降解线性单链、双链 DNA 或缺刻质粒 DNA。
2. 去除环化双链 DNA 中的不完全连接产物。
3. 去除碱裂法提取质粒过程中产生的变性质粒 DNA, 降解线性和缺刻质粒 DNA, 获得高纯度的超螺旋质粒 DNA。
4. 提高小提质粒 cDNA 文库的转染效率。
5. 常用于 Gibson 组装(Gibson Assembly)。

活性定义:

1 活性单位(U)是指以单链 DNA 为底物, 37°C、1× Exo I 缓冲液 条件下, 30 min 内释放 10 nmol 酸溶性核苷酸所需的酶量。

蛋白纯度检测:

经 SDS-PAGE 凝胶电泳检测, 蛋白纯度不低于 95%。

内切酶残留检测:

将 10 U T5 Exonuclease 与 1 µg 超螺旋质粒 DNA 在 37°C下, 共同温育 4 h 后, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 少于 10% 的质粒 DNA 转变成缺刻状态。

宿主 DNA 残留检测:

使用大肠杆菌 16S rDNA 特异性引物, 采用荧光定量 PCR 法检 10 U T5 Exonuclease, 大肠杆菌宿主基因组 DNA 残留低于 1 copy。

加样体系:

| 组分 | 体积 |
|--------------------------|-------------|
| DNA | 1 µg |
| 10× Cut Buffer D | 5 µl |
| T5 Exonuclease (10 U/µl) | 1 µl |
| Nuclease-Free Water | up to 50 µl |

反应条件:

37°C 30 min。

失活条件:

80°C 20 min, 或加入 EDTA 至终浓度为至少 11 mM, 或 加入含 SDS 的 DNA Loading (SDS 终浓度需 0.08%)。

注意事项:

1. T5 Exonuclease 是一种非特异性的 DNA 外切酶, 对于不同类别的 DNA 有不同的反应速率, 进行反应时应该注意选取合适的酶量和反应时间。
2. T5 Exonuclease 在 37°C拥有最佳反应活性, 在 50°C也具有一定活性, 可用于 Gibson 组装。
3. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究, 不得用于医学诊断及其他用途!