

Exonuclease III

Code No. 2170A

包装量: 5,000 U
浓度: 200 U/ μ l

附带试剂:

10X Exonuclease III Buffer

1 ml

制品说明:

本酶具有作用于双链DNA的3' \rightarrow 5' 外切酶活性。本酶对双链结构具有高度特异性, 能降解平滑末端、3' 凹陷末端及有切口的DNA, 但是不能降解3' -突出末端。所以, 可以用产生不同末端的限制酶通过双重降解 (Double digestion) 后, 利用Exonuclease III的3' \rightarrow 5' 的外切酶活性, 从一端降解, 得到互补的单链DNA和5' -P单核苷酸。与BAL 31 Nuclease相比, 本酶的碱基特异性较小, 如在富含GC的位置上, 由于反应停止的机率较低, 可用于DNA的删除制作。

酶贮存溶液:

25 mM	Tris-HCl, pH8.0
50 mM	KCl
0.5 mM	DTT
50%	Glycerol

保存: -20°C

起源:

Escherichia coli BE257/pSGR3

活性定义:

以限制酶处理的小牛胸腺 DNA 为底物, 在 37°C、pH8.0 的条件下, 30 分钟内产生 1 nmol 酸可溶性物质所需要的酶量定义为 1 个活性单位 (unit)。

活性定义反应液:

50 mM	Tris-HCl, pH8.0
5 mM	MgCl ₂
1 mM	DTT
300 μ M	substrate DNA

质量控制:

请查阅各批次 Certificates of Analysis (CoA)。产品 CoA 请在 Takara Bio Inc. 网站上下载:

https://catalog.takara-bio.co.jp/search/doc_index.php。

用途:

1. 通过部分降解双链 DNA 片段, 产生一部分单链 DNA 片段, 作 DNA 聚合酶的底物。生成的 DNA 可用于双脱氧法序列分析^{3,4}。
2. 与单链特异性核酸酶 (S1 Nuclease 或 Mung Bean Nuclease) 合用制作 DNA 缺失片段³。本酶对双链结构 DNA 具有高度特异性, 对于双酶切 DNA 片段 (例如 *EcoR* I-*Pst* I Fragment) 能制作单向 (*EcoR* I 方向) 缺失的 DNA⁴。
3. DNA-蛋白质相互作用分析⁵。

使用注意:

1. 存放 6 个月以上应置于 -80°C 保存。
2. 该酶在性质上有这样一个特点: DNA 即使具有 3' 突出末端, 有时也因其末端及序列的不同而被作为底物降解。

例如:

- 一个碱基突出型 (*Eam*11051 I 等)
- 二个碱基突出型 (*Pvu* I、*Sac* II 等)
- 三个碱基突出型 (*Sfi* I 等)
- 四个碱基突出型 (*Apa* I 被确认, *Ban* II 及 *Bst*X I 也有可能)

添附Buffer组成 (保存: -20°C):

10X Exonuclease III Buffer	
500 mM	Tris-HCl, pH8.0
50 mM	MgCl ₂
10 mM	DTT

* 本 buffer 与活性定义所用 buffer 有相同成分。本 buffer 含有实验所需主要成分, 如质粒 DNA 缺失突变体的构建实验。

使用例:

5' -protruding end or blunt end DNA	5-10 μ g (1-2 pmol)
10X Exonuclease III Buffer	10 μ l
Exonuclease III	180 U
灭菌水	up to 100 μ l

在 37°C 下保温 1-10 min。

65°C 下加热 5 分钟停止反应。

反应产物用于下一步实验。

(在上述条件下, 每分钟约移除 300 bp 左右。)

参考文献:

- 1) Rogers S G and Weiss B. *Methods in Enzymology*. (1980) **65**: 201-211.
- 2) Wu R, Ruben G, Siegel B, Jay E, Spielman P, and Tu C -P D. *Biochemistry*. (1976) **15**: 734-740.
- 3) Guo L -H and Wu R. *Methods in Enzymology*. (1983) **100**: 60-96.
- 4) James C D and Leffak I M. *Anal Biochem*. (1984) **141**: 33-37.
- 5) Wu C. *Nature*. (1985) **317**: 84-87.

注意

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经 Takara Bio Inc. 书面许可授权或批准, 不得制造、许诺销售、销售、进口 Takara 产品, 或者使用 Takara 产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权, 请联络我们, 或访问我们网站 www.takarabio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术 (北京) 有限公司翻译制作, 最新版本文件请参考 Takara Bio Inc. 网站。为正确使用 Takara 产品, 您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v202107Da