

Exonuclease T

产品编号	产品名称	包装
D6003S	Exonuclease T	250U
D6003M	Exonuclease T	1250U
D6003L	Exonuclease T	5000U

产品简介:

- 碧云天生产的Exonuclease T, 即核酸外切酶T, 也称RNase T, 是一种从大肠杆菌中表达纯化获得的能够特异催化单链DNA或RNA从3'-5'方向降解的核酸外切酶[1]。Exonuclease T常用于单链DNA/RNA的消化, 或将带有3'突出末端的双链DNA或双链RNA生成平末端[2]。
- Exonuclease T对单链RNA和单链DNA 3'端外切酶的催化活性不同, 对于单链DNA的活性要高很多。在标准反应条件下, 完全消化1.0pmol的rA20需要1U的Exonuclease T。而1U的Exonuclease T可以在30分钟内从50pmol Fam-labeled poly-dT酶切产生1nmol dT。相当于两者的每活性相差约50倍左右。
- Exonuclease T对3'端末端含有一个胞嘧啶的RNA底物, 降解活性会降低100倍; 对3'端末端含有两个连续的胞嘧啶的底物, 没有降解活性。因此Exonuclease T难以降解3'端含有胞嘧啶的单链RNA。
- 碧云天生产的Exonuclease T用于催化降解双链DNA和单链DNA的效果可参考图1。

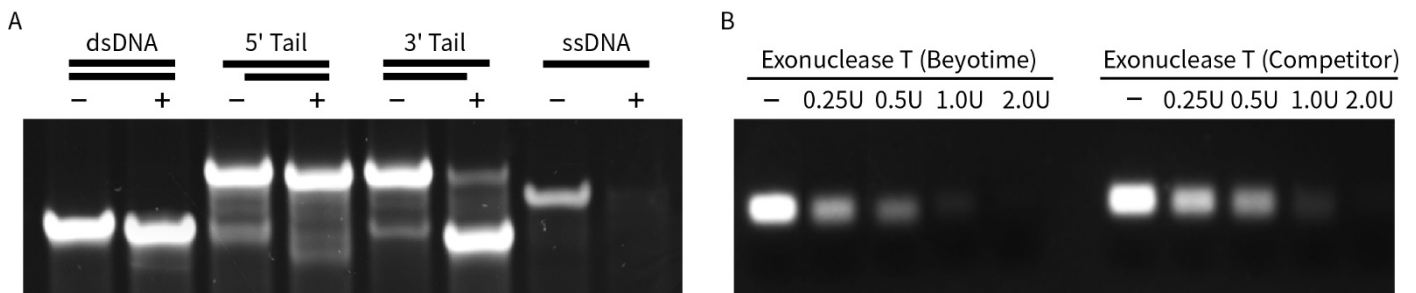


图1. 碧云天生产的Exonuclease T (D6003)用于催化降解双链DNA和单链DNA的效果图。A. 在20 μ l反应体系(50mM Potassium Acetate, 20mM Tris-acetate, 10mM Magnesium Acetate, 1mM DTT (pH7.9 @ 25 $^{\circ}$ C))中加入20pmol的不同类型DNA底物, 以及5U的Exonuclease T, 25 $^{\circ}$ C孵育30分钟进行反应, 反应完成后65 $^{\circ}$ C孵育20分钟以终止反应。取反应后产物5 μ l, 加入1 μ l 6X DNA Loading Buffer (D0071), 然后进行15%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳(180V电泳60分钟), 之后用NA-Red (EB升级换代产品, 2000X) (D0128/D0130)室温染色5分钟, 在紫外灯下观察实验结果。如图所示, 碧云天生产的Exonuclease T可有效将ssDNA和3'突出的双链DNA, 从3'-5'方向进行消化降解, 但不能作用于平末端、5'突出的双链DNA。B. 在20 μ l反应体系(50mM Potassium Acetate, 20mM Tris-acetate, 10mM Magnesium Acetate, 1mM DTT (pH7.9 @ 25 $^{\circ}$ C))中加入20pmol长度为50nt的ssDNA, 以及图中指定量的本产品或N公司(Competitor)的Exonuclease T, 25 $^{\circ}$ C孵育30分钟进行反应, 反应完成后65 $^{\circ}$ C孵育20分钟以终止反应。取反应后产物5 μ l, 加入1 μ l 6X DNA Loading Buffer (D0071), 然后进行1%琼脂糖凝胶电泳(140V电泳30分钟), 在紫外灯下观察实验结果。如图所示, 本产品与N公司的Exonuclease T产品相比, 具有类似的消化降解ssDNA的效果。实际操作时不同实验条件获得的实验结果会略有差异, 图中所示结果仅供参考。

- **用途:** 去除双链DNA的3'突出末端生成平末端; DNA测序或SNP分析前, 去除PCR反应中的单链引物; 去除nested PCR中的单链引物; 去除样品中的单链DNA, 保留双链DNA [3]。
- **来源:** 纯化自携带编码大肠杆菌Exonuclease T基因的*E.coli*重组菌株。
- **活性定义:** One unit is defined as the amount of enzyme required to release 1nmol of single dT nucleotides from 50pmol of Fam-labeled polythymidine substrate in 30 minutes at 25 $^{\circ}$ C。
- **纯度:** 不含除Exonuclease T以外的其它种类的DNA/RNA外切酶, 不含DNA/RNA内切酶。
- **酶储存液:** 10mM Tris-HCl, 50mM KCl, 1mM DTT, 0.1mM EDTA, 200 μ g/ml BSA, 50% Glycerol (pH7.4 @ 25 $^{\circ}$ C)。
- **10X Reaction Buffer:** 500mM Potassium Acetate, 200mM Tris-acetate, 100mM Magnesium Acetate, 10mM DTT (pH7.9 @ 25 $^{\circ}$ C)。
- **失活或抑制:** 65 $^{\circ}$ C孵育20分钟可使Exonuclease T失活。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
------	------	----

D6003S-1	Exonuclease T (5U/μl)	50μl
D6003S-2	10X Reaction Buffer	0.25ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6003M-1	Exonuclease T (5U/μl)	250μl
D6003M-2	10X Reaction Buffer	1.25ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6003L-1	Exonuclease T (5U/μl)	1ml
D6003L-2	10X Reaction Buffer	5ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20°C保存，至少两年有效。

注意事项：

- 酶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°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. 参考下表在冰浴中配制如下反应体系(以50μl体系为例)：

Reagent	Volume	Final Concentration
Nuclease-Free Water	(47-x)μl	-
10X Reaction Buffer	2μl	1X
Substrate	xμl (5nmol bases)	0.1nmol/μl
Exonuclease T	1μl	0.1U/μl
Total Volume	50μl	-

注1：为获得最好的底物酶切效果，实验过程中可参考酶活单位定义对酶用量进行适当调整，摸索最优反应体系。

注2：如果同时进行多个反应，可以把上表中除Exonuclease T之外所有成分提前混合，分装到各反应管中，最后再加入Exonuclease T。

- 按上表配制好反应体系后，适当轻轻混匀，随后低速离心使粘附在管壁上的液体沉至管底。
- 反应条件：25°C孵育30分钟。**注：**反应时间可以根据实际情况酌情适当调节。
- 终止反应：65°C孵育20分钟使Exonuclease T失去活性。
- 取酶切消化后的产物进行琼脂糖凝胶或聚丙烯酰胺电泳分析，拍照观察并分析酶切效果。如果需要从琼脂糖凝胶中回收DNA样品，推荐使用D0056 DNA凝胶回收试剂盒；如果需要从酶切消化反应体系中纯化DNA样品，推荐使用D0033 PCR纯化试剂盒/DNA纯化试剂盒。

参考文献：

- Zuo Y, Deutscher MP. J Biol Chem. 2002. 277(51): 50155-50159.
- Zuo Y, Deutscher MP. J Biol Chem. 2002. 277(33): 29654-29661.
- Hsiao YY, Fang WH, Lee CC, Chen YP, Yuan HS. PLoS Biol. 2014. 12(3): e1001803.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D6003S	Endonuclease T	250U
D6003M	Endonuclease T	1250U
D6003L	Endonuclease T	5000U
D6006S	RecJf Exonuclease	1.5KU
D6006M	RecJf Exonuclease	7.5KU
D6006L	RecJf Exonuclease	30KU
D7039	Klenow Fragment, Exo-	100U
D7041S	Klenow Fragment, Exo-	200U
D7041M	Klenow Fragment, Exo-	1000U

D7041L	Klenow Fragment, Exo-	5000U
D7043S	E.coli DNA Polymerase I	250U
D7043M	E.coli DNA Polymerase I	1000U
D7043L	E.coli DNA Polymerase I	5000U
D7080S	T7 Endonuclease I (CRISPR等基因突变鉴定用)	250U
D7080M	T7 Endonuclease I (CRISPR等基因突变鉴定用)	1250U
D7080L	T7 Endonuclease I (CRISPR等基因突变鉴定用)	5000U
D7082S	T5 Exonuclease	1000U
D7082M	T5 Exonuclease	5000U
D7082L	T5 Exonuclease	20kU
D7084S	Lambda Exonuclease	1KU
D7084M	Lambda Exonuclease	5KU
D7084L	Lambda Exonuclease	25KU
R7088S	RNase H	250U
R7088M	RNase H	1000U
R7088L	RNase H	5000U
R7096S	RNase T1	100000U
R7096M	RNase T1	500000U

Version 2023.10.20