

T5 Exonuclease

T750876

存储温度: -20℃

产品介绍

T5 Exonuclease, 即 T5 核酸外切酶, 是一种按照 5'→3'方向降解双链或单链 DNA 的核酸外切酶。T5 Exonuclease 既能从单链或双链 DNA 5'末端起始消化, 也可以从线性或环状双链 DNA 的缺口(gap)或缺刻(nick)处起始消化。T5 Exonuclease 无法降解超螺旋双链 DNA, 并且其降解单链 DNA 的活性可以通过将反应缓冲液中的 Mg^{2+} 降低到低于 1mM 而进行抑制。基于以上特性, T5 Exonuclease 常被用于 Gibson 组装(Gibson Assembly)。

Gibson 组装是在恒温条件下, 有效连接带有多个重叠序列片段的技术, 其基本原理可以概括为三步: (1) T5 核酸外切酶从 DNA 片段的 5'末端开始消化, 产生互补的单链 3'末端(overhangs), 促使互补的末端退火; (2) DNA 聚合酶填补退火片段的缺口(gaps); (3) DNA 连接酶将组装后的切刻(nicks)处进行连接, 最后得到一个完整的双链 DNA。

用途:

常用于 Gibson 组装; 降解线性单链、双链 DNA 或缺刻质粒 DNA; 从连接的环状双链 DNA 中去除不完全连接产物; 降解线性和缺刻质粒 DNA, 以获得高纯度的超螺旋质粒 DNA; 去除碱裂法提取质粒过程中产生的变性质粒 DNA; 提高小量抽提质粒 cDNA 文库的转染效率。

来源:

纯化自表达 T5 噬菌体 D15 基因质粒的 E.coli 菌株。

活性定义:

一个单位定义为在 37 °C 下, 在 30 分钟内从双链 DNA 生成 1 nmol 酸溶性脱氧核糖核苷酸, 总反应体积为 50 μ l 所需的酶量。

纯度:

不含 T5 Exonuclease 之外的 DNA 内切酶和外切酶, 不含 RNA 酶, 不含磷酸酯酶。

酶储存液:

50mM Tris-HCl (pH7.5, 25 °C), 100mM NaCl, 1mM DTT, 0.1mM EDTA, 0.1% (v/v) Triton X-100, 50% (v/v) Glycerol。

10X 反应缓冲液:

200mM Tris-acetate (pH7.9, 25 °C), 500mM Potassium Acetate, 100mM Magnesium Acetate, 10mM DTT。

失活或抑制：

加入 EDTA 至终浓度为至少 11mM 或含有 SDS 的 DNA loading buffer (SDS 的最终浓度为 0.08%)可使 T5 Exonuclease 失活。

使用说明

参考下表在冰浴中设置反应体系：

Reagent	Volume	Final Concentration
DNA	X μ L	0.02 μ g/ μ L
Nuclease-free Water	(44-x) μ L	-
10X Reaction buffer	5 μ L	1X
T5 Exonuclease	1 μ L	0.2U/ μ L
Total Volume	50 μ L	-

注：T5 Exonuclease 应最后加入反应体系中，并且加入前须注意混匀反应体系；使用时宜存放在冰盒内或冰浴上。

适当混匀反应体系，低速离心以沉淀液体至管底。

反应条件：37°C 孵育 10-30min。

终止反应：反应结束后立即冰浴并加入 EDTA 至终浓度为 11mM 以终止反应。

注意事项

1. T5 Exonuclease 是一种对于 DNA 底物有选择性的核酸外切酶，其对不同的 DNA 底物显示出不同的反应活性。因此，消化特定的底物时，须注意适当控制好酶量和反应时间。
2. T5 Exonuclease 的最佳反应温度为 37°C，但是在 50°C 也具有一定活性，因此可用于 Gibson 组装。
3. T5 Exonuclease 在普通 PCR buffer 中也具有活性。
4. 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。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作