T5 Exonuclease

REF: EG24208S

储运条件

-20℃

产品组成

组分	规格
T5 Exonuclease (10 U/μl)	100 μl
10× T5 Reaction Buffer	1 ml

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。

活性定义

1 活性单位 (U) 是指以鲑鱼精 DNA 为底物，37 ℃，1× T5 Reaction Buffer 条件下，每分钟使反应液 A260 变化 0.00032 所需的酶量。

适用范围

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)。

质量控制

蛋白纯度检测

使用 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℃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 法检测 10 U T5 Exonuclease，大肠杆菌宿主基因组 DNA 残留低于 1 copy。

使用方法

加样体系：

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

反应条件：37℃ 30 min。
失活条件：80℃ 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℃拥有最佳反应活性，在 50℃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及口罩进行实验操作。

最终解释权所有 © 江苏百时美生物科技有限公司，保留一切权利

江苏百时美生物科技有限公司
BestEnzymes Biotech Co., Ltd.
Add: 连云港市海州区高新技术产业开发区花果山大道 17-1-12-14 层
Tel: 0518-8558 6628 • E-mail:support@best-enzymes.com • www.best-enzymes.com