

Exonuclease I

REF: EG24213-S/M

储运条件

-20°C

产品组成

组分	规格 S	规格 M
Exonuclease I (20 U/μl)	75 μl	375 μl
10× Exo I Buffer	1 ml	5×1 ml

产品简介

Exonuclease I (*E. coli*) 是单链特异性核酸外切酶，沿 3'-5' 方向降解单链 DNA，释放 5'-脱氧核糖核苷酸。Exo I 对单链有很强的特异性，不会降解双链 DNA 和 RNA。此外，也无法降解由磷酸基团或乙酰基团封闭了 3'-OH 末端的 DNA 单链。本产品是把 Exo I 基因 (*E. coli*) 在大肠杆菌中进行重组表达后，经多次纯化分离而得到的。

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 酸性核苷酸所需的酶量。

产品应用

- 从 PCR 产物中去除引物和寡核苷酸：Exo I 可去除 PCR 反应中未用完的引物以及扩增产生的多余的单链 DNA。
- 去除核酸混合物中的 ssDNA：Exo I 可特异性地消化反应液中的 ssDNA，而不会消化 dsDNA 和 RNA。
- ssDNA 检测：Exo I 可用于检测存在游离 3' 羟基的 ssDNA。

质量控制

蛋白纯度

经 SDS-PAGE 凝胶电泳检测，蛋白纯度不低于 95%。

非特异性内切酶活性

37°C 下，在 20 μl 反应体系中将 100 U Exonuclease I 与 200 ng 超螺旋质粒 DNA 共同温育 4 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测，少于 20% 的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

DNase 活性

37°C 下，在 20 μl 反应体系中将 100 U Exonuclease I 与 15 ng 双链 DNA 片段共同温育 16 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测，双链 DNA 片段无变化。

RNase 活性

37°C 下，在 10 μl 反应体系中将 100 U Exonuclease I 与 500 ng RNA 共同温育 1 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测，超过 90% 的 RNA 保持完整。

宿主 DNA 残留

采用中国药典 2020 版四部通则 3407 外源性 DNA 残留量测定法第三法定量 PCR 法，本品中大肠杆菌宿主细胞 DNA 残留量低于 1 拷贝 /20 U。

使用方法

1. 推荐的反应体系

(1) PCR 反应产物中去除引物或其他单链残留：

组分	体积
PCR mixture	5 μl
Exonuclease I	0.5 μl (10 U)

注：配合虾碱性磷酸酶 (SAP) 用来去除残存的单核苷酸 (dNTPs)，之后不需要对 PCR 产物进行纯化，即可以进行测序反应。

(2) 单链 DNA 去除

组分	体积
DNA mixture ^a	2 μg
Exonuclease I	1 μl
10× Exo I Buffer	2 μl
ddH ₂ O	Up to 20 μl

a: DNA mixture 中的单链 DNA 不超过 1 μg。

2. 推荐的反应条件

37°C 温育 15~30 min。

3. 失活

80°C 温育 20 min。

注意事项

- Exo I 可兼容绝大多数 PCR 体系，可直接在 PCR 产物中添加。纯化后的 PCR 产物可直接用于测序，但不推荐直接用于克隆。
- Exo I 用于单独去除 ssDNA 的实验，推荐搭配 10× Exo I Buffer 使用。
- Exo I 不能切割双链 DNA，因此含有二级结构的单链 DNA 需要变性后才能完全消化。
- 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。