

T5 Exonuclease 说明书

产品组成

T5 Exonuclease	1000 U	5000 U
Cat. No.	8011001	8011005
T5 Exonuclease (10 U/ μ l)	100 μ l	500 μ l
10 \times T5 Exonuclease Buffer	500 μ l	1.25 ml \times 2
0.5 M EDTA	200 μ l	1 ml
说明书	1 份	1 份

产品储存与有效期

- 20 $^{\circ}$ C 储存，有效期 3 年。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

T5 Exonuclease 是一种双链 DNA 特异性的核酸外切酶和单链 DNA 核酸内切酶。它既能从单链或双链 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，但不会降解环状 DNA 或者环状超螺旋双链 DNA。因此，T5 Exonuclease 广泛用于去除已连接的环化 dsDNA 中的不完全连接产物、降解碱裂解提取质粒中的变性 DNA、降解质粒样品中线性单链 DNA 以及无缝克隆 (Gibson 组装) 等。

活性单位定义

1 单位 T5 Exonuclease 指在缓冲液中，37 $^{\circ}$ C 条件下，每分钟引起 0.00032 A260 nm 变化所需要的酶量。

纯度

不含其它 DNA 内切酶和外切酶，不含 RNA 酶。

产品应用

去除已连接的环化 dsDNA 中的不完全连接产物

去除碱裂解提取质粒中的变性 DNA

去除质粒样品中线性单链 DNA (ssDNA)、双链 DNA (dsDNA) 或切刻质粒 DNA

提高小提制备的 cDNA 文库质粒的转染效率

无缝克隆 (Gibson 组装)

使用方法

1. 先将各组分在室温融化，颠倒混匀并进行短暂离心，放在冰上备用。
2. 以 50 μ l 反应体系示例，在微量离心管中加入以下各种成分：

DNA	$\leq 1 \mu\text{g}$
10 \times T5 Exonuclease Buffer	5 μ l
T5 Exonuclease (10 U/ μ l) *	1 μ l
ddH ₂ O	Up to 50 μ l

* T5 Exonuclease 应最后加入反应体系中。

3. 混合均匀并低速离心数秒使液体沉降至管底，37 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟。
4. 加入 2 μ l 0.5 M EDTA 终止反应；或者加入 5 μ l 10 \times Loading Buffer (含 SDS) (Simgen Cat. No. 9046005) 终止反应。
5. 取 10 μ l 反应产物，进行琼脂糖凝胶电泳检测。

注意事项

1. T5 Exonuclease 无法热失活。
2. 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，可根据实验情况适当调整酶的用量和反应时间。
3. T5 Exonuclease 在普通 PCR Buffer 中也具有活性，注意避免污染，以免影响 PCR 实验。
4. 如果需要去除酶切产物中残留的酶蛋白及消化的产物单核苷酸，可在 37 $^{\circ}$ C 孵育结束后直接用 Simgen DNA 纯化试剂盒 (Cat. No.2101050) 进行纯化回收 (若第一次进行实验，建议先电泳检测观察是否酶切完全)。Simgen DNA 纯化试剂盒适合纯化 10 kb 以下的环状 DNA；若需纯化 10-30 kb 的环状 DNA，可联系我司技术支持将试剂盒中配套的纯化柱更换为合适大片段 DNA 回收的纯化柱；对于 30 kb 以上的环状 DNA，采用柱纯化方式回收 DNA 可能会导致大片段 DNA 在纯化过程中被拉扯断裂，建议使用醇沉淀法回收。