

Exonuclease III

REF: EG20207S

储运条件

-20°C

产品组成

组分	规格
Exonuclease III (100 U/μl)	50 μl
10× Exo III Buffer	500 μl

产品简介

Exonuclease III 是一种核酸外切酶，该酶作用于双链 DNA，从 3'-OH 末端方向逐步切去单核苷酸。

该酶最适底物是平末端或 5' 末端突出的 DNA，但也可以作用于双链 DNA 切割位点产生单链缺口。由于对单链 DNA 无活性，因此该酶难以切割 3' 突出末端。3' 到 5' 外切酶活性对底物的消化程度随 3' 突出末端的长度而变化，四碱基或更长的突出末端难以被切割。这种特性可以用于生产特定方向的单链 DNA，将线性化 DNA 设计成为一端为不切割末端（3' 突出端），另一端则设计为易切割末端（平端或 5' 突出端），此时 Exonuclease III 将仅消化一条链。

Exonuclease III 也有 RNase H、3'-磷酸酶和脱嘌呤 / 嘧啶 - 核酸内切酶活性。

应用方向

1. 单向嵌套缺失
2. 定点突变
3. 单链特异性探针的制备
4. 双脱氧测序用单链底物的制备

反应条件

1× Exo III Buffer, 37°C 孵育。

酶活定义

一个酶活单位 (U) 的定义是以双链 DNA 为底物在 37°C 下孵育 30 min，生成 1 nmol 的酸可溶性物所需的酶量。

质量控制

核酸内切酶污染

Exonuclease III 与超螺旋 DNA 共同孵育后进行琼脂糖凝胶电泳，超螺旋条带无显著降解。

使用方法

1. 于冰上配置如下反应体系

试剂	使用量
DNA	~5 μg
10× Exo III Buffer	5 μl (1×)
Exonuclease III	0.5 μl
Nuclease-Free Water	To 50 μl

2. 37°C 孵育 30 min;
3. 加入终浓度为 11 mM 的 EDTA 以停止反应;
4. 热失活条件为 70°C 孵育 30 min;
5. 建议采用以下步骤回收处理后的样本:
 - a. 使用 PCR 柱清洁;
 - b. 进行琼脂糖凝胶电泳，然后回收 DNA;
 - c. 进行苯酚 / 氯仿萃取，后使用乙醇沉淀。