

Exonuclease III

目录号：AE2102

使用前请仔细阅读说明书

产品说明

外切核酸酶 III 作用于双链 DNA，从 3' OH 末端方向逐步切去单核苷酸。每次酶与底物结合催化，只有几个核苷酸被除掉，从而在 DNA 分子群内产生渐进式 3'端缺失。

尽管可以作用于双链 DNA 的切刻产生单链缺口，但该酶最适底物是平齐末端或 3' 凹陷末端 DNA。由于对单链 DNA 无活性，因此该酶无法切割 3' 突出末端。3' →5' 外切酶活性对底物的切割程度随 3' 突出末端的长度而变化，四碱基或更长的突出末端完全不能被切割。

核酸外切酶 III 的活性部分依赖 DNA 双螺旋结构，并根据序列的不同而有差异（C>A=T>G）。温度、盐浓度和酶与 DNA 的比例对酶活性影响很大，应根据不同的反应调整反应条件。

核酸外切酶 III 也有 RNase H、3'-磷酸酶、脱嘌呤/嘧啶（AP）位点特异性核酸内切酶活性。

本公司 Exonuclease III 是重组表达，并经多步纯化制备的重组蛋白。

活性定义

1 活性单位指在 37°C 条件下，30 min 内催化生成 1nmol 酸可溶性总核苷酸所需的酶量。

活性测定条件

1×AM BufferA: 10 mM Bis-Tris, 10 mM MgCl₂, 1 mM DTT (pH 7.0)

浓度：100U/μl

保存条件：-20°C 可保存 2 年，避免反复冻融

特点与适用范围

- 3' →5' 外切酶活性
- 双链 DNA 的非定向巢式缺失
- RPA 扩增中荧光探针的降解，释放荧光信号
- 制备用于双脱氧测序的单链模板

产品包装规格及组成

Component	AE2102A	AE2102B
Exonuclease III	2500U	12500U
10×AM Buffer A	0.2ml	1.0ml

质量控制

经过严格的质控检测，确保该产品具有最高的活性和纯度。

酶贮存缓冲液

200 mM KCl, 5 mM KPO₄, 5 mM β-ME, 0.05 mM EDTA, 200 μg/ml BSA, 50% Glycerol (pH 6.5@25°C)。

注意事项

- 核酸外切酶 III 不能切割硫代磷酸酯键。因此，也可以通过引入一个 α-硫代磷酸核苷酸将 DNA 分子的一端保护起来，以进行单向切割。
- 这种特性可以用于对一端为钝化末端（3' 突出端），另一端是敏感末端（平端或 5' 突出端）的线性 DNA 分子进行单方向切割。
- 在如下 Buffer 中的活性为：AM Buffer 1: 100%，AM Buffer 2: 75%，AM Buffer 3: 25%，AM Buffer 4: 75%，AM Buffer 4.1: 100%

相关产品

AE2101: lambda exonuclease

应用实例

1. 酶切反应

1) 按下表配制反应体系

反应组分	体积/ul
10× Buffer	5
平末端或 5'突出端 (3' 凹陷末端) DNA	2-5ug
Exonuclease III (100U/μl)	1
H ₂ O	variable
总体积	50

2) 37°C 反应 30min;

3) 75°C 加热 10min, 使酶失活

4) 电泳检测双链 DNA 水解结果。

2. RPA 荧光释放反应

1) 按下表配制反应体系

反应组分	体积/ul
10 × RPA Buffer	5
RPA Mix	Xul
RPA 引物 F (10uM)	5
RPA 引物 R (10uM)	5
RPA 荧光探针 (10uM)	1
Exonuclease III (100U/μl)	1
H ₂ O	variable
总体积	50

2) 在荧光检测仪 (qPCR 仪) 中 37°C 反应 15-60min;

3) 观测荧光曲线。

警告: 本产品仅限科研实验使用, 临床应用安全性和有效性未鉴定, 不可用于医疗临床诊断。