碧云天网站　微信公众号

碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订货热线: 400-1683301或800-8283301
订货e-mail: order@beyotime.com
技术咨询: info@beyotime.com
网址: http://www.beyotime.com

T5 Exonuclease

产品编号	产品名称	包装
D7082S	T5 Exonuclease	1000U
D7082M	T5 Exonuclease	5000U
D7082L	T5 Exonuclease	20kU

产品简介：

- 碧云天生产的T5 Exonuclease，即T5核酸外切酶，是一种按照5'→3'方向降解双链或单链DNA的核酸外切酶。T5 Exonuclease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。T5 Exonuclease无法降解超螺旋双链DNA，并且其降解单链DNA的活性可以通过将反应缓冲液中的Mg^{2+}降低到低于1mM而进行抑制。基于以上特性，T5 Exonuclease常被用于Gibson组装(Gibson Assembly)。
- Gibson组装是在恒温条件下，有效连接带有多个重叠序列片段的技术，其基本原理可以概括为三步：(1) T5核酸外切酶从DNA片段的5'末端开始消化，产生互补的单链3'末端(overhangs)，促使互补的末端退火；(2) DNA聚合酶填补退火片段的缺口(gaps)；(3) DNA连接酶将组装后的切刻(nicks)处进行连接，最后得到一个完整的双链DNA。
- 碧云天生产的T5 Exonuclease消化线性dsDNA的效果参考图1。

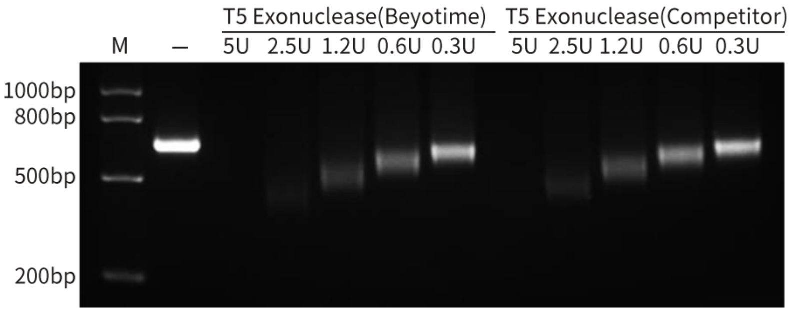

图1. 碧云天生产的T5 Exonuclease消化线性dsDNA的效果图。在50μl反应体系(50mM Potassium Acetate, 20mM Tris-acetate pH 7.9, 10mM Magnesium Acetate, 1mM DTT)中，加入通过PCR扩增产生的1μg 646bp片段，以及图中指定量的本产品或N公司(Competitor)的T5 Exonuclease，37ºC孵育10min进行反应，反应完毕后立即置于冰浴，并加入1.2μl 0.5M EDTA以终止反应。取出10μl反应产物，加入2μl 6X DNA Loading Buffer，然后进行2%琼脂糖凝胶电泳检测。如图所示，本产品与N公司的产品相比，具有类似的降解双链线性DNA的效果。

- 碧云天生产的T5 Exonuclease消化线性ssDNA的效果参考图2。

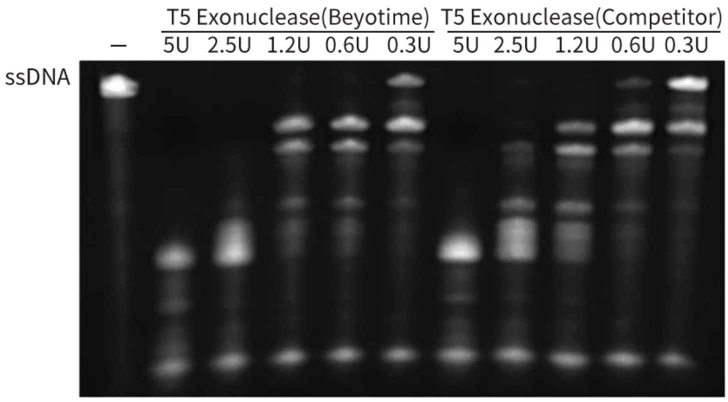

图2. 碧云天生产的T5 Exonuclease消化线性ssDNA的效果图。在50μl反应体系(50mM Potassium Acetate, 20mM Tris-acetate pH7.9, 10mM Magnesium Acetate, 1mM DTT)中，加入人工合成的1μg 59nt片段，以及图中指定量的本产品或N公司(Competitor)的T5 Exonuclease，37ºC孵育30min进行反应，反应完毕后立即置于冰浴，并加入1.2μl 0.5M EDTA以终止反应。取出10μl反应产物，加入2μl 6X DNA Loading Buffer，然后进行7M Urea+15%聚丙烯酰胺凝胶电泳(冰浴条件下用1X TBE作为电泳液, 180V电泳120min；之后用D0140 Gel-Red溶液(5000:1)室温染色20min，即可拍照观察结果)。如图所示，本产品与N公司的产品相比，具有类似的降解单链线性DNA的效果。

- **用途：**常用于Gibson组装；降解线性单链、双链DNA或缺刻质粒DNA；从连接的环状双链DNA中去除不完全连接产物；降解线性和缺刻质粒DNA，以获得高纯度的超螺旋质粒DNA；去除碱裂法提取质粒过程中产生的变性质粒DNA；提高小量抽提质粒cDNA文库的转染效率。
- **来源：**纯化自表达T5 噬菌体D15基因质粒的*E.coli*菌株。
- **活性定义：**One unit is defined as the amount of enzyme required to produce 1 nmol of acid soluble deoxyribonucleotide from double-stranded DNA in 30 minutes at 37 ºC in a total reaction volume of 50µl.
- **纯度：**不含T5 Exonuclease之外的DNA内切酶和外切酶，不含RNA酶，不含磷酸酯酶。
- **酶储存液：**50mM Tris-HCl (pH7.5, 25ºC), 100mM NaCl, 1mM DTT, 0.1mM EDTA, 0.1% (v/v)Triton X-100, 50% (v/v) Glycerol。
- **10X Reaction Buffer：**200mM Tris-acetate (pH7.9, 25ºC), 500mM Potassium Acetate, 100mM Magnesium Acetate, 10mM DTT。
- **失活或抑制：**加入EDTA至终浓度为至少11mM或含有SDS的DNA loading buffer (SDS的最终浓度为0.08%)可使T5 Exonuclease失活。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D7082S-1	T5 Exonuclease (10U/µl)	100µl
D7082S-2	10X Reaction Buffer	600µl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D7082M-1	T5 Exonuclease (10U/µl)	500µl
D7082M-2	10X Reaction Buffer	1.5ml X2
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D7082L-1	T5 Exonuclease (10U/µl)	2ml
D7082L-2	10X Reaction Buffer	12ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20ºC保存，三年有效。

注意事项：

- T5 Exonuclease是一种对于DNA底物有选择性的核酸外切酶，其对不同的DNA底物显示出不同的反应活性。因此，消化特定的底物时，须注意适当控制好酶量和反应时间。
- T5 Exonuclease的最佳反应温度为37ºC，但是在50ºC也具有一定活性，因此可用于Gibson组装。
- T5 Exonuclease在普通PCR buffer中也具有活性。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 参考下表在冰浴中设置反应体系：

Reagent	Volume	Final
DNA	xµl	0.02µg/µl
Nuclease-free Water	(44-x)µl	-
10X Reaction buffer	5µl	1X
T5 Exonuclease	1µl	0.2U/µl
Total Volume	50µl	-

   注：T5 Exonuclease应最后加入反应体系中，并且加入前须注意混匀反应体系；使用时宜存放在冰盒内或冰浴上。
2. 适当混匀反应体系，低速离心以沉淀液体至管底。
3. 反应条件：37ºC孵育10-30min。
4. 终止反应：反应结束后立即冰浴并加入EDTA至终浓度为11mM以终止反应。
5. 将酶切消化后的产物进行琼脂糖凝胶或聚丙烯凝胶电泳分析，拍照观察并分析酶切效果。如果需要从琼脂糖凝胶中回收DNA样品，推荐使用D0056 DNA凝胶回收试剂盒；如果需要从酶切消化反应体系中纯化DNA样品，推荐使用D0033 PCR纯化试剂盒/DNA纯化试剂盒。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D0033	PCR纯化试剂盒/DNA纯化试剂盒	50次
D0056	DNA凝胶回收试剂盒	50次
D7078S	Thermolabile dsDNase	50次
D7078M	Thermolabile dsDNase	250次
D7080S	T7 Endonuclease I (CRISPR等基因突变鉴定用)	250U
D7080M	T7 Endonuclease I (CRISPR等基因突变鉴定用)	1250U
D7080L	T7 Endonuclease I (CRISPR等基因突变鉴定用)	5000U
D7089	RNase H	100U
R7090FT	Thermostable RNase H	50U
R7090S	Thermostable RNase H	250U
R7090M	Thermostable RNase H	1000U
R7090L	Thermostable RNase H	5000U
D6053	BamHI	2000U
D6329	EcoRI	2000U
D6389	HindIII	2000U
D6721	XhoI	2000U

Version 2020.10.25