

版本号: M16B01V1.0



# Exonuclease III (*E.coli*)

TEL: 400-999-6126

目录号: RK20533

WEB: www.abclonal.com.cn

规格: 2,500 U / 5,000 U / 25,000 U

浓度: 100,000 U/mL

## 产品组成:

Exonuclease III ( <i>E.coli</i> )	RM20521
10X ABuffer A	RM20125

## 产品说明

Exonuclease III (*E.coli*) (Exo III) 能降解 dsDNA 的平末端、5'-突出末端或切口, 从 dsDNA 链的 3'-OH 末端逐步释放 5'-单磷酸核苷酸, 产生 ssDNA 片段。每次 Exo III 酶结合到 dsDNA 上时, 都有单个核苷酸被移除, 从而导致 DNA 分子群体中发生不同程度的末端渐进缺失。

尽管 Exo III 可以将 dsDNA 上的 Nicks 外切成 Gaps, 但 Exo III 的最佳底物是平末端 dsDNA 或 3'-末端凹陷 dsDNA。3'-突出末端的 dsDNA 能阻止 Exo III 降解, 其抵制程度取决于 3'-突出末端的突出长度, 突出 4 个或更长的碱基时能够完全阻止 Exo III 的酶切。另外, 该酶对单链 DNA、硫代磷酸酯连接的核苷酸无活性。

Exo III 的酶活性部分依赖于 DNA 的螺旋结构, 并表现出序列依赖性(C>A=T>G)。温度、盐浓度、酶与 DNA 的比值都能够对酶活性产生很大影响, 所以不同的应用需要使用不同的反应条件。

Exo III 还具有以下三种酶活性:

3'-磷酸酶活性: 切除 3'-末端的磷酸基团, 产生 3'-OH 基团;

RNase H 活性: 外切核酸酶活性, 降解 RNA-DNA 杂合体中的 RNA 链;

AP-内切核酸酶活性: 切割脱嘌呤或脱嘧啶位点(AP 位点)的磷酸二酯键, 产生 5'-端无碱基的脱氧核糖 5'-磷酸残基。

## 产品应用

- 与 S1 Nuclease 协同作用, 制备单向缺失的 DNA 片段
- 定点突变
- 链特异性探针制备
- Sanger 法测序单链底物制备

## 产品来源

*E.coli* 来源的 Exo III 基因在大肠杆菌中表达并分离纯化得到。

## 活性定义

1 活性单位(U)是指在 50  $\mu$ L 反应体系中, 在 37°C 30 min 内催化 0.15 mM [ $^3$ H]-dsDNA 释放 1 nmol 酸不溶性物质所需的酶量。

## 反应条件

1X ABuffer A, 37°C 反应

## 1X ABuffer A 组成

10 mM Bis-Tris-Propane-HCl, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM DTT, pH 7 @ 25°C

## 保存温度

-20°C

## 酶存储液

5 mM KPO<sub>4</sub>, 200 mM KCl, 5 mM  $\beta$ -ME, 0.05 mM EDTA, 200  $\mu$ g/mL BSA, 50% Glycerol, pH 6.5 @ 25°C

## 热失活

70°C 加热 20 min

## 在 ABclonal Buffer 中的活性

ABufferA	ABufferB	ABufferC	ABufferS	CutS
100%	75%	25%	75%	100%

## 注意事项

- 硫代磷酸键不能被 Exo III 所酶切。
- DNA 片段单向删除缺失也可以被  $\alpha$ -硫代磷酸酯连接的 3'-末端所保护。

## 质量控制

- ◆ SDS-PAGE 检测蛋白纯度大于 95%。
- ◆ 无核酸内切酶和 RNA 酶活性。
- ◆ PCR 检测无宿主基因组残留。