

RecJ_f Exonuclease

REF: EG26205-S/M

储存条件

-20℃保存 2 年

产品组成

组分	规格 S	规格 M
RecJ _f Exonuclease (30 U/μl)	50 μl	250 μl
10× Cut Buffer G	1.25 ml	2×1.25 ml

产品简介

RecJ_f Exonuclease，是一种 Mg²⁺ 依赖性的单链 DNA 特异性核酸外切酶，沿 5'→3' 方向降解单链 DNA。RecJ_f Exonuclease 是 RecJ 与麦芽糖结合蛋白（MBP）的重组融合蛋白，在大肠杆菌中表达纯化后获得，和野生型 RecJ 具有相同的酶学特性。RecJ_f Exonuclease 可以降解双链 DNA 中的长度大于 6 nt 的 5' 突出末端，但产物并非全部是平末端；RecJ_f Exonuclease 发挥活性时无需 5' 末端磷酸化；RecJ_f Exonuclease 不能消化 RNA。

活性定义

1 单位是指在 50 μl 反应体系中，37℃ 条件下，30 分钟催化单链 DNA 产生 0.05 nmol 可溶于 TCA 的脱氧核糖核苷酸所需的酶量。

产品应用

1. 可用于从 5' 端降解单链 DNA，也可用于部分消除双链 DNA 的 5' 单链突出末端（不能完全得到平末端的双链 DNA）；
2. 用于同源重组、碱基切除和甲基定向错配修复等。

质量控制

蛋白纯度

经 SDS-PAGE 凝胶电泳检测，蛋白纯度不低于 95%。

非特异性内切酶活性

37℃ 下，在 20 μl 反应体系中将 30 U RecJ_f Exonuclease 与 200 ng 超螺旋质粒 DNA 共同温育 4 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测，少于 20% 的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

DNase 活性

37℃ 下，在 20 μl 反应体系中将 30 U RecJ_f Exonuclease 与 15 ng 双链 DNA 片段共同温育 16 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测，双链 DNA 片段无变化。

RNase 活性

37℃ 下，在 10 μl 反应体系中将 30 U RecJ_f Exonuclease 与 500 ng RNA 共同温育 1 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测，超过 90% 的 RNA 保持完整。

使用方法

① 在冰上配制如下反应体系：

试剂	使用量
ssDNA	X μl (≤1 μg)
10× Cut Buffer G	5 μl
RecJ _f Exonuclease (30 U/μl)	1 μl
ddH ₂ O	Up to 50 μl

- ② 轻柔吸打或轻弹管壁以混匀，然后瞬时离心以收集挂壁液滴；
- ③ 37℃ 孵育 20~60 min，反应时间可以根据实际情况酌情适当延长；
- ④ 65℃ 孵育 5 min 终止反应。

注意事项

1. 由于 RecJ_f Exonuclease 只特异性催化 5'→3' 方向单链线性 DNA 的降解，不能从 3'→5' 方向降解单链线性 DNA，也不能作用于双链 DNA，因而使用 RecJ_f Exonuclease 时，请注意选择合适的底物类型。

2. 硫代磷酸酯（PT）键会阻碍 RecJ_f Exonuclease 酶切，但 PT 键的两种手性构型中只有一种能阻碍酶切。为了彻底防止所有 PT 键位置的降解，建议在化学合成的 DNA 中包含五个连续的 PT 键。

3. 不建议使用 RecJ_f Exonuclease 制备平末端 DNA，因为当双链 DNA 的 5' 端只有 6 个甚至更少的碱基突出时，RecJ_f Exonuclease 不能很好地发挥其 5'→3' 的外切酶活性。

4. 本产品仅作科学研究使用，不得用于其它用途。

5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。