

Cloned Exonuclease I

Code No. 2650A
Size : 750 units

Shipping at — 20 °C
Stored at — 20 °C

Supplied Reagents :

10 × Exonuclease I Buffer **1 ml**

Lot No.

Concentration :

Volume :

Expiry Date :

units/μl
μl

Description : *E. coli* Exonuclease I is a 3' → 5' exonuclease specific for single-stranded DNA, and it results in the production of 5'-P mononucleotides. This enzyme has a strict specificity for single-stranded DNA, and does not react with it is double-stranded DNA or RNA. It is inactivated by heat treatment at 80 °C for 15 minutes.

Storage Buffer : 20 mM Tris-HCl, pH 7.5
0.5 mM EDTA
1 mM DTT
50 % Glycerol

Source : *Escherichia coli* JM109 carrying plasmids encoding the gene for *E. coli* exonuclease I.

Unit definition : One unit is the amount of enzyme that produces 10 nmol of acid-soluble products in 30 minutes at 37 °C and pH 9.5, with heat-denatured calf thymus DNA as the substrate.

Reaction mixture for unit definition :

67 mM Glycine-KOH, pH 9.5
1 mM DTT
6.7 mM MgCl₂
0.25 mg/ml substrate DNA

Purity : Nuclease activity was not detected in either of the following cases, as judged from the agarose gel electrophoresis patterns :

1. After incubation of 1 μg of λ-Hind III digest with 25 units of this enzyme at 37 °C for 16 hours at pH7.5.
2. After incubation of 1 μg of supercoiled pBR322 (RF I) with 25 units of this enzyme at 37 °C for 16 hours at pH7.5.
3. After incubation of 1 μg of single-strand M13 mp18 DNA with 25 units of this enzyme at 37 °C for 16 hours at pH7.5.
4. After incubation of 1 μg of 16S, 23S rRNA with 25 units of this enzyme at 37 °C for 16 hours at pH7.5.

Applications :

1. Removal of ssDNA fragments in a reaction mixture.
2. Deletion of remaining primers after PCR reaction.

Composition of Supplied Reagents (Store at — 20 °C) :

10 × Exonuclease I Buffer
670 mM Glycine-KOH, pH9.5
10 mM DTT
67 mM MgCl₂

Application example :

ssDNA (100 mers)	2.5 μg
pBR322-EcoRI fragment	0.5 μg
10 × Exonuclease I Buffer	2 μl
Exonuclease I	10 ~ 50 units
sterilized distilled water	up to 20 μl

Incubate at 37 °C for 30 min.

Only single-stranded DNA (100 mers) was digested.

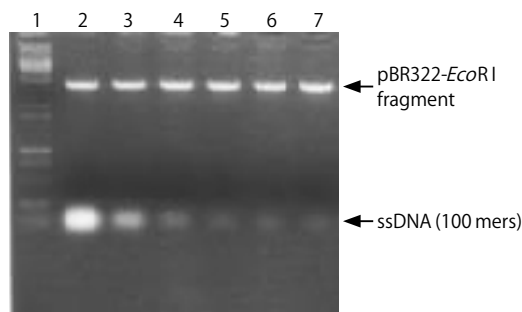


Fig. 1 Degradation of ssDNA (100 mers) using Exonuclease I

Lane 1 : Marker
Lane 2 : without Exonuclease I
Lane 3 : with Exonuclease I (10 U)
Lane 4 : with Exonuclease I (20 U)
Lane 5 : with Exonuclease I (30 U)
Lane 6 : with Exonuclease I (40 U)
Lane 7 : with Exonuclease I (50 U)

Note

This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc. Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from TAKARA BIO INC. If you require licenses for other use, please contact us by phone at +81 77 565 6973 or from our website at www.takara-bio.com. Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements. All trademarks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

Cloned Exonuclease I

Code No. 2650A
Size : 750 units

Shipping at -20°C
Stored at -20°C

添付試薬 : $10 \times$ Exonuclease I Buffer 1 ml

Lot No. (英文面をご覧ください。)
濃度 : (英文面をご覧ください。)
容量 : (英文面をご覧ください。)
品質保証期限 : (英文面をご覧ください。)

●製品説明

DNA のリン酸化エステル結合の加水分解を触媒することにより、一本鎖 DNA の 3'-OH 末端から 5'-モノヌクレオチドを遊離させる 3'→5' エクソヌクレアーゼである。本酵素の一本鎖 DNA に対する特異性は高く、二本鎖 DNA および RNA は分解しない。本酵素は、 80°C 、15 分間の熱処理によって失活する。

●形状

20 mM	Tris-HCl, pH 7.5
0.5 mM	EDTA
1 mM	DTT
50 %	グリセロール

●起源

Escherichia coli JM109 carrying plasmids encoding the gene for *E. coli* exonuclease I.

●保存 -20°C

●活性の定義

熱変性牛胸腺 DNA を基質として、 37°C 、pH9.5 の条件下において、30 分間に 10 nmol の酸可溶性分解物を生成する酵素活性を 1 U とする。

●活性測定用反応液組成

67 mM	Glycine-KOH, pH 9.5
1 mM	DTT
6.7 mM	MgCl_2
0.25 mg/ml	熱変性牛胸腺 DNA

●純度

- 25 U の本酵素と $1 \mu\text{g}$ の λ -Hind III 分解物を 37°C 、pH7.5 条件下で 16 時間反応させても、DNA の電気泳動パターンに変化は起こらない。
- 25 U の本酵素と $1 \mu\text{g}$ の supercoiled pBR322 (RFI) を 37°C 、pH7.5 条件下で 16 時間反応させても、DNA の電気泳動パターンに変化は起こらない。
- 25 U の本酵素と $1 \mu\text{g}$ の single-strand M13 mp18 DNA を 37°C 、pH7.5 条件下で 16 時間反応させても、DNA の電気泳動パターンに変化は起こらない。
- 25 U の本酵素と $1 \mu\text{g}$ の 16S, 23S rRNA を 37°C 、pH7.5 条件下で 16 時間反応させても、RNA の電気泳動パターンに変化は起こらない。

●用途

- 反応液からの ssDNA の除去
- PCR 反応後の残存 primer の分解

●添付試薬組成 ($10 \times$)

670 mM	Glycine-KOH, pH 9.5
10 mM	DTT
67 mM	MgCl_2

●使用例

ssDNA (100 mers)	2.5 μg
pBR322-EcoRI fragment	0.5 μg
$10 \times$ Exonuclease I Buffer	2 μl
Exonuclease I	10 ~ 50 units
滅菌蒸留水	up to 20 μl

↓ 37°C 、30 分間インキュベート

1 本鎖 DNA (100 mers ssDNA) のみ分解がみられた。(Fig.1)

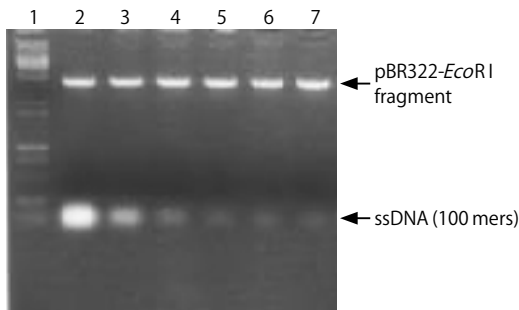


Fig.1 Exonuclease I による 1 本鎖 DNA の分解

Lane 1 : Marker
Lane 2 : without Exonuclease I
Lane 3 : with Exonuclease I (10 U)
Lane 4 : with Exonuclease I (20 U)
Lane 5 : with Exonuclease I (30 U)
Lane 6 : with Exonuclease I (40 U)
Lane 7 : with Exonuclease I (50 U)

●注意

本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
本データシートに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

v200810Da_201601