



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

RecJ_f Exonuclease

产品编号	产品名称	包装
D6006S	RecJ _f Exonuclease	1.5KU
D6006M	RecJ _f Exonuclease	7.5KU
D6006L	RecJ _f Exonuclease	30KU

产品简介:

- 碧云天生产的RecJ_f Exonuclease, 即RecJ_f核酸外切酶, 是由碧云天自主研发的PerfectProtein™技术平台表达、纯化获得的一种Mg²⁺依赖的、特异性作用于单链DNA的5'端核酸外切酶。
- RecJ_f Exonuclease是RecJ Exonuclease和maltose binding protein的融合表达蛋白, 和RecJ Exonuclease有相同的酶活性。
- RecJ_f Exonuclease能够沿5'→3'方向降解单链DNA; RecJ_f Exonuclease也可以外切降解双链DNA中的长度大于6nt的5'突出末端(5'-overhang); RecJ_f Exonuclease对于5'端为磷酸或羟基(5'-P or 5'-OH)的单链DNA有相近的酶切效果; RecJ_f Exonuclease不能消化和降解RNA; RecJ_f Exonuclease的酶活性依赖于镁离子[1]。
- 碧云天生产的RecJ_f Exonuclease消化线性ssDNA的效果请参考图1:

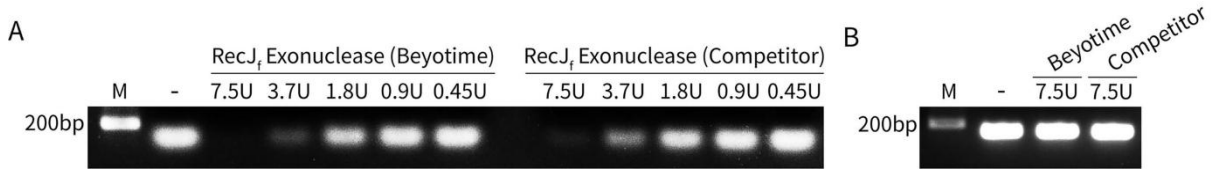


图1. 碧云天生产的RecJ_f Exonuclease (D6006)消化线性单链DNA的效果图。在50μl反应体系(50mM NaCl, 10mM Tris-HCl, 10mM MgCl₂, 1mM DTT)中, 加入合成的1μg 136nt单链DNA (A)或者经PCR扩增产生的1μg 136bp双链DNA片段(B), 以及图中指定量的本产品或N公司(Competitor)的RecJ_f Exonuclease, 37°C孵育1小时, 然后立即置于65°C孵育20分钟以终止反应。取出10μl反应产物, 加入2μl 6X DNA Loading Buffer (D0071), 然后进行2%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, 具有基本相当的降解单链线性DNA的效果, 但均不能降解双链DNA。实际操作时不同实验条件获得的实验结果会略有差异, 图中所示结果仅供参考。

- **用途:** 本产品可用于从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)。RecJ_f Exonuclease常应用于同源重组(Homologous recombination)、碱基切除(Base excision)和甲基定向错配修复(Methyl-directed mismatch repair)等的遗传学和生化实验中[2]。
- **来源:** 由大肠杆菌的*recJ*基因和maltose binding protein融合表达, 经纯化而获得。
- **活性定义:** One unit is defined as the amount of enzyme required to produce 0.05nmol TCA soluble deoxyribonucleotide in a total reaction volume of 50μl in 30 minutes at 37°C。
- **纯度:** 不含除RecJ_f Exonuclease之外的其它种类的DNA内切酶和外切酶, 不含RNA酶, 不含磷酸酯酶。
- **酶储存液:** 10mM Tris-HCl, 50mM KCl, 1mM DTT, 0.1mM EDTA, 200μg/ml BSA, 50% Glycerol (pH7.4 @ 25°C)。
- **10X Reaction Buffer:** 500mM NaCl, 100mM Tris-HCl, 100mM MgCl₂, 10mM DTT (pH7.9 @ 25°C)。
- **失活或抑制:** 65°C孵育20分钟可使RecJ_f Exonuclease失活。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D6006S-1	RecJ _f Exonuclease (30U/μl)	50μl
D6006S-2	10X Reaction Buffer	250μl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6006M-1	RecJ _f Exonuclease (30U/μl)	250μl
D6006M-2	10X Reaction Buffer	1.25ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6006L-1	RecJ _f Exonuclease (30U/μl)	1ml
D6006L-2	10X Reaction Buffer	5ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存, 至少一年有效。

注意事项:

- 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, 请注意选择适当的相应底物类型。
- 酶使用时宜存放在冰盒内或冰浴上, 使用完毕后宜立即放置于-20°C保存。
- 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(以50μl体系为例):

Reagent	Volume	Final Concentration
ssDNA	xμl	0.02ug/μl
10X Reaction Buffer	5μl	1X
RecJ _f Exonuclease (30U/μl)	1μl	0.6U/μl
Nuclease-free Water	(44-x)μl	-
Total Volume	50μl	-

注: 如果同时进行多个反应, 可把上表中除底物ssDNA之外的所有组分预先混合, 然后再分装到各反应管; RecJ_f Exonuclease使用时宜存放在冰盒内或冰浴上。

2. 适当轻轻混匀反应体系, 随后低速离心以使粘附在管壁上的液体沉淀至管底。
3. 反应条件: 37°C孵育20分钟。反应时间可以根据实际情况酌情适当延长。
4. 终止反应: 反应结束后立即将反应产物在65°C条件下孵育20分钟, 以终止反应。
5. 将反应后的产物进行琼脂糖凝胶或聚丙烯酰胺电泳, 拍照观察并分析酶切效果。
6. 其它用途请自行参考RecJ_f Exonuclease的相关文献资料进行。

常见问题:

1. 能否用RecJ_f Exonuclease生成平末端的DNA?
不能。由于RecJ_f Exonuclease对作用的底物具有一定的选择性, 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。建议使用碧云天的D7012 DNA末端平滑试剂盒, 或使用D7052 T4 DNA Polymerase等进行双链DNA末端的平末端化。
2. RecJ_f Exonuclease与外切酶I (Exonuclease I)之间有什么不同?
RecJ_f Exonuclease是特异性沿5'→3'方向降解单链线性DNA分子, 而Exonuclease I是催化单链线性DNA分子3'→5'方向的降解。
3. RecJ_f Exonuclease能否被热失活?
可以。将RecJ_f Exonuclease在65°C条件下孵育20分钟, 即可使其完全失活。
4. RecJ_f Exonuclease能否沿5'→3'方向降解单链RNA分子?
不能。RecJ_f Exonuclease是特异性作用于单链DNA的核酸外切酶。只能以ssDNA或带有5'突出末端(> 6nt)的dsDNA为底物, 催化单链部分沿着5'→3'方向脱氧核糖核苷酸的移除反应, 而不能作用于RNA分子。

参考文献:

1. Han ES, Cooper DL, Persky NS, Suter VA Jr, Whitaker RD, et al. Nucleic Acids Res. 2006. 34(4):1084-91.
2. Suter VA, Jr., Han ES, Rajman LA and Lovett ST. J Bacteriol. 1999. 181(19):6098-102.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D0071	DNA上样缓冲液(6X)	2ml
D0072	BeyoRed DNA上样缓冲液(6X)	2ml
D0107	DNA Ladder (0.1-10kb, 21 bands)	100次
D0109	DNA Ladder (0.1-10 kb, 21 bands, with BeyoRed)	100次
D0110	DNA Ladder (0.2-12kb, 12 bands)	100次
D0111	DNA Ladder (0.2-12kb, 12 bands, with BeyoRed)	100次
D0161S	BeyoGel™琼脂糖预制胶(1%, NA-Red, TAE, 8孔)	10块
D0163S	BeyoGel™琼脂糖预制胶(2%, NA-Red, TAE, 8孔)	10块

D6006S	RecJ _f Exonuclease	1.5KU
D6006M	RecJ _f Exonuclease	7.5KU
D7012	DNA末端平滑试剂盒	20次
D7073	DNase I	200U
D7076	DNase I	1000U
D7080S	T7 Endonuclease I	250U
D7080M	T7 Endonuclease I	1250U
D7080L	T7 Endonuclease I	5KU
D7082S	T5 Exonuclease	1KU
D7082M	T5 Exonuclease	5KU
D7102S	BeyoNGS™ Tn5 Transposase	800pmol
D7102M	BeyoNGS™ Tn5 Transposase	4000pmol
D7362S	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Bacterium)	100U
D7362M	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Bacterium)	500U
D7013S	Quick Blunting Kit	20次
D7013M	Quick Blunting Kit	100次
R7096S	RNase T1	100KU
R7096M	RNase T1	500KU

Version 2022.03.06