

Lambda Exonuclease

产品编号	产品名称	包装
D7084S	Lambda Exonuclease	1KU
D7084M	Lambda Exonuclease	5KU
D7084L	Lambda Exonuclease	25KU

产品简介:

- 碧云天生产的Lambda Exonuclease, 即 λ Exonuclease, λ 核酸外切酶或Lambda核酸外切酶, 是一种特异性作用于DNA的5'→3'核酸外切酶, 能选择性地沿5'→3'方向消化5'端磷酸化的双链DNA, 对单链DNA和5'端未磷酸化修饰的DNA的酶切活性较低, 不能从DNA的切刻或缺口处起始消化[1, 2]。Lambda Exonuclease对5'-OH端的切割速度比5'-P端慢约20倍; 对单链DNA的酶切速度比双链DNA慢约100倍。Lambda Exonuclease是由碧云天自主研发的PerfectProtein™技术平台表达、纯化获得的重组酶。
- 碧云天生产的Lambda Exonuclease对一条链带有5'磷酸化修饰的双链线性DNA消化的效果参考图1。

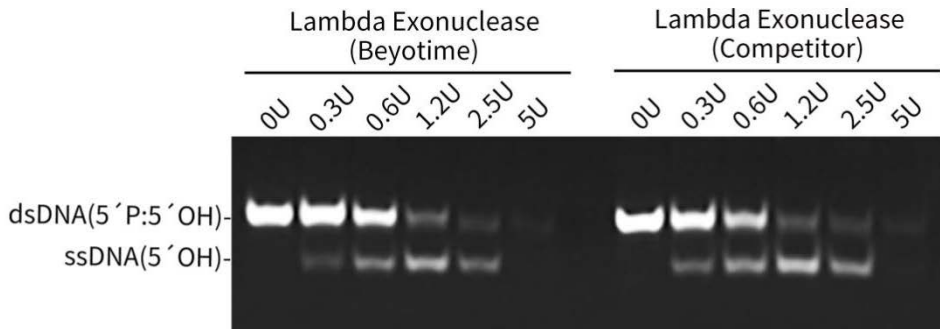


图1. 碧云天生产的Lambda Exonuclease (D7084)对仅一条链带有5'磷酸化修饰的双链线性DNA消化的效果图。在20 μ l反应体系(67mM Glycine-KOH pH9.4, 2.5mM MgCl₂, 50 μ g/ml BSA)中, 加入5pmol 26bp双链线性DNA片段(其中一条核酸链带有5'磷酸化修饰, 另一条链无5'磷酸化修饰), 以及图中指定量的本产品或N公司(Competitor)的Lambda Exonuclease, 37°C孵育30分钟进行反应, 反应完毕后加入10mM EDTA终止反应, 并在75°C条件下孵育10分钟进行灭活处理。取出10 μ l反应产物, 加入2 μ l 6X DNA Loading Buffer, 然后进行10%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳。用1X TBE作为电泳液, 180V电泳40分钟, 之后用D0128/D0130 NA-Red (1:2000稀释)室温染色7分钟, 即可拍照观察结果。如图所示, 本产品与N公司的产品相比, 具有类似的降解带有5'磷酸化修饰的双链线性DNA的效果。图中效果仅供参考。

- 碧云天生产的Lambda Exonuclease对5'磷酸化修饰的单链线性DNA消化的效果参考图2。

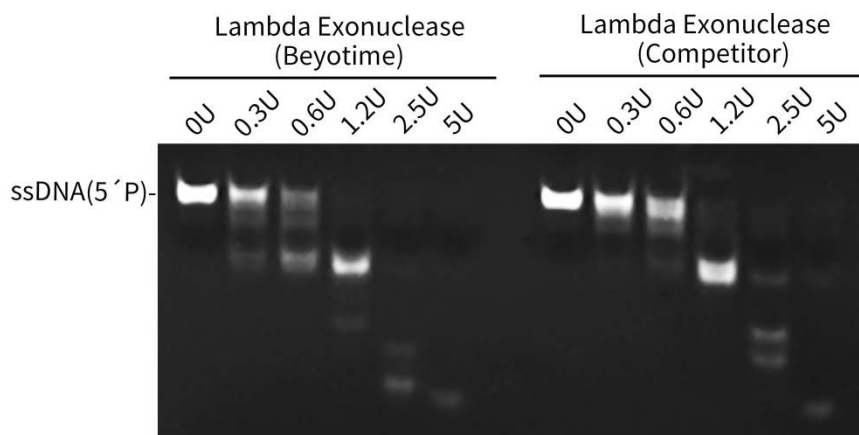


图2. 碧云天生产的Lambda Exonuclease (D7084)对5'磷酸化修饰的单链线性DNA消化的效果图。在20 μ l反应体系(67mM Glycine-KOH pH9.4, 2.5mM MgCl₂, 50 μ g/ml BSA)中, 加入10pmol 26nt单链线性DNA片段(5'磷酸化修饰), 以及图中指定量的本产品或N公司(Competitor)的Lambda Exonuclease, 37°C孵育30分钟进行反应, 反应完毕后加入10mM EDTA终止反应, 并在75°C条件下孵育10分钟进行灭活处理。取出10 μ l反应产物, 加入2 μ l 6X DNA Loading Buffer, 然后进行10%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳。用1X TBE作为电泳液, 180V电泳40分钟; 之后用D0128/D0130 NA-Red (1:2000稀释)室温染色7分钟, 即可

拍照观察结果。如图所示，本产品与N公司的产品相比，具有类似的降解带有5'磷酸化修饰的单链线性DNA的效果。图中效果仅供参考。

➤ 碧云天生产的Lambda Exonuclease对无5'磷酸化修饰的双链线性DNA消化的效果参考图3。

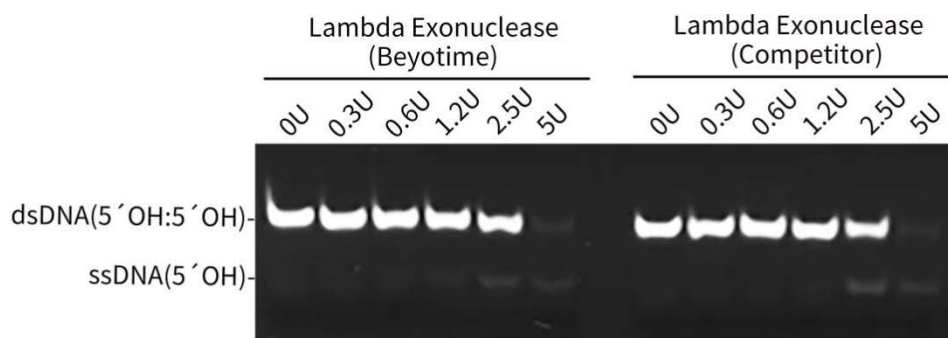


图3. 碧云天生产的Lambda Exonuclease (D7084)对无5'磷酸化修饰的双链线性DNA消化的效果图。在20 μ l反应体系(67mM Glycine-KOH pH9.4, 2.5mM MgCl₂, 50 μ g/ml BSA)中，加入5pmol 26bp双链线性DNA片段(无5'磷酸化修饰)，以及图中指定量的本产品或N公司(Competitor)的Lambda Exonuclease，37 $^{\circ}$ C孵育30分钟进行反应，反应完毕后加入10mM EDTA终止反应，并在75 $^{\circ}$ C条件下孵育10分钟进行灭活处理。取出10 μ l反应产物，加入2 μ l 6X DNA Loading Buffer，然后进行10%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳。用1X TBE作为电泳液，180V电泳40分钟；之后用D0128/D0130 NA-Red (1:2000稀释)室温染色7分钟，即可拍照观察结果。如图所示，本产品与N公司的产品相比，均不能有效的消化无5'磷酸化修饰的双链线性DNA。图中效果仅供参考。

- **用途:** 生成单链PCR产物用于DNA测序；DNA单链构象多态性(SSCP)分析；滚环扩增；从双链DNA片段生成单链DNA；PCR产物的克隆；质粒制备净化。
- **来源:** 纯化自携带编码大肠杆菌Lambda核酸外切酶基因的*E.coli*重组菌株。
- **酶活性:** Lambda exonuclease is a highly processive 5'→3' exodeoxyribonuclease, selectively digests the 5'-phosphorylated strand of double-stranded DNA, exhibits low activity on single-stranded DNA and non-phosphorylated DNA, and has limited activity at gaps in DNA [1, 2]。
- **活性定义:** One unit is defined as the amount of enzyme required to produce 10nmol of acid-soluble deoxyribonucleotide from double-stranded substrate in a total reaction volume of 50 μ l in 30minutes at 37 $^{\circ}$ C in 1X Lambda Exonuclease Reaction Buffer with 1 μ g sonicated duplex [³H]-DNA.
- **纯度:** 不含除Lambda Exonuclease之外的其它种类的外切酶，不含内切酶，不含RNA酶，不含磷酸酯酶。
- **酶储存液:** 25mM Tris-HCl, 50mM NaCl, 1mM DTT, 0.1mM EDTA, 50% Glycerol, (pH8.0 @25 $^{\circ}$ C)。
- **10X Reaction Buffer:** 670mM Glycine-KOH, 25mM MgCl₂, 500 μ g/ml BSA, (pH9.4 @25 $^{\circ}$ C)。
- **失活或抑制:** 加入EDTA至终浓度为至少10mM，75 $^{\circ}$ C孵育10分钟可使Lambda Exonuclease失活。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D7084S-1	Lambda Exonuclease (5U/ μ l)	200 μ l
D7084S-2	10X Reaction Buffer	1ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D7084M-1	Lambda Exonuclease (5U/ μ l)	1ml
D7084M-2	10X Reaction Buffer	5ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D7084L-1	Lambda Exonuclease (5U/ μ l)	5ml
D7084L-2	10X Reaction Buffer	25ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20 $^{\circ}$ C保存，2年有效。

注意事项:

- Lambda Exonuclease的最佳反应温度是37 $^{\circ}$ C，在75 $^{\circ}$ C条件下孵育10分钟可使其完全失活。
- 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. 参考下表在冰浴中配制反应体系(以50μl体系为例)。

Reagent	Volume
10X Reaction Buffer	5μl
DNA Sample	Xμl (up to 5μg)
Lambda Exonuclease (5U/μl)	1μl (5U)
Ultrapure Water	Up to 50μl
Total Volume	50μl

2. 移液器吹打混匀，低速离心使粘附在管壁上的液体沉降至管底。

3. 反应条件：37°C孵育30分钟。

4. 终止反应：加入EDTA至终浓度为10mM。

5. 热失活：75°C孵育10分钟使Lambda Exonuclease失去活性。

6. 将酶切消化后的产物进行琼脂糖凝胶或聚丙烯酰胺电泳分析，拍照观察并分析酶切效果。

7. 如果需要进一步纯化处理后的样品，推荐使用以下几种方式之一进行纯化：

- 柱纯化，推荐使用PCR纯化试剂盒/DNA纯化试剂盒进行(D0033)。
- 从琼脂糖凝胶中回收DNA样品，推荐使用DNA凝胶回收试剂盒(D0056)。
- 也可酌情进行苯酚/氯仿抽提，然后进行乙醇沉淀。

常见问题：

1. T5 Exonuclease与Lambda Exonuclease (D7084)有何不同？

与Lambda Exonuclease不同，T5 Exonuclease可以降解带缺刻的环状双链DNA。T5 Exonuclease也作用于单链DNA，而Lambda Exonuclease对单链DNA的降解效率较低。

2. T7 Exonuclease与Lambda Exonuclease (D7084)有何不同？

T7 Exonuclease与Lambda Exonuclease不同，能作用于缺刻处且进行性较低，且对单链DNA的降解活性甚至低于Lambda Exonuclease。由于它的进行性较低，因此T7 Exonuclease对于单向嵌套删除可能更实用。在使用T7 Exonuclease时，可通过稀释T7 Exonuclease来控制反应速率。而在使用高度进行性的酶，如Lambda Exonuclease时，稀释使用会产生完全消化的产物和未消化的底物的混合物。

3. Exonuclease I能否与双链核酸外切酶一起使用来清理质粒制剂？

Exonuclease I可与Lambda Exonuclease一起使用以清理质粒制备物。核酸外切酶III和T7核酸外切酶也有效，但会损坏有缺刻的质粒。虽然可以使用核酸外切酶I，但我们建议在质粒制备后使用核酸外切酶V (RecBCD)去除染色体DNA。

参考文献：

- Little JW. J Biol Chem. 1967 Feb 25;242(4):679-86.
- Mitsis PG, Kwagh JG. Nucleic Acids Res. 1999 Aug 1;27(15):3057-3063.

相关产品：

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