

Instrukcja

Egzonukleaza V (RecBCD)

Rekombinowany enzym degradujący liniowy ssDNA i dsDNA w kierunku 3'-5' oraz 5'-3'. Stężenie 10 U/μl.

numer katalogowy	wielkość
1036-1000	1000 U
1036-5000	5000 U

Produkt przeznaczony wyłącznie do badań naukowych.

Gwarancja

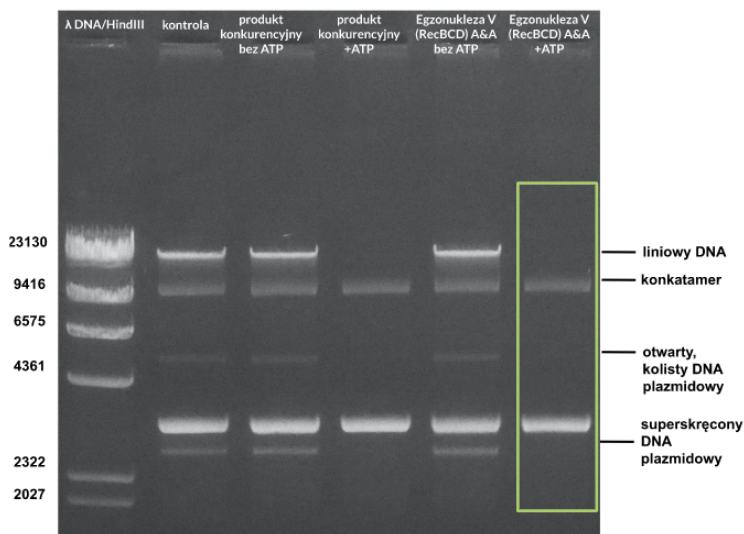
Firma A&A Biotechnology udziela gwarancji na niniejszy produkt.

Firma nie gwarantuje poprawnego działania produktu w przypadku:

- odstępstwa od dostarczonego wraz z produktem protokołu
- braku zalecanego w niniejszym protokole wyposażenia i materiałów
- użycia innych odczynników niż zalecane lub które nie wchodzą w skład produktu
- użycia przeterminowanych odczynników oraz elementów produktu

Zalety

- Specyficzna egzonukleaza DNA posiadająca aktywność egzonukleazy ssDNA i dsDNA oraz zależną od ATP aktywność endonukleazy ssDNA.
- Hydrolizuje ssDNA oraz dsDNA w kierunku 3'-5' i 5'-3'.
- Degraduje liniowy ssDNA i dsDNA pozostawiając nienaruszony superskręcony i kolisty dsDNA.



Rys. 1 Na zdjęciu przedstawiono degradację liniowego DNA przez egzonukleazę V (RecBCD) A&A w porównaniu z enzymem konkurencyjnym.

Opis

Egzonukleaza V to kompleks rekombinowanych białek RecB, RecC oraz RecD pochodzących z *E. coli*. Enzym posiada właściwości katalityczne helikazy oraz nukleazy. W obecności ATP katalizuje cięcie egzonukleolityczne w kierunku od 5' do 3' lub od 3' do 5', z wytworzeniem 5'-fosfooligonukleotydów.

Zastosowanie

- Usuwanie pozostałości po fragmencie genomowego DNA po oczyszczeniu niskokopijnych plazmidów.
- Usuwanie genomowego DNA podczas oczyszczania mitochondrialnego i chloroplastowego DNA.
- Usuwanie zanieczyszczeń liniowym DNA z próbek plazmidów.

Definicja jednostki

Jedna jednostka jest zdefiniowana jako ilość enzymu potrzebna do powstania 1 nmola deoksyrybonukleotydów rozpuszczalnego w kwasie z dwuniciowego DNA w ciągu 30 minut w temperaturze 37 °C w objętości reakcji 30 µl.

Skład

	1036-1000		1036-5000		
	ilość	nr kat.	ilość	nr kat.	przechowywanie
Egzonukleaza V					
bufor do przechowywania: 100 mM MOPS pH 7,4, 2 mM MgCl ₂ , 1 mM DTT, 0,01 mM EDTA, 50% glicerol	1000 U	K-EXV-1000	2 x 2500 U	K-EXV-2500	-20 °C
bufor do ExoV					
10x bufor reakcyjny ExoV: 500 mM CH ₃ COOK, 200 mM Tris-CH ₃ COOH pH 7,9, 100 mM (CH ₃ COO) ₂ Mg, 10 mM DTT	200 µl	K-BEXV-200B	5 x 200 µl	K-BEXV-200B	-20 °C
10 mM ATP	200 µl	K-ATP-200B	5 x 200 µl	K-ATP-200B	-20 °C
woda ultraczysta	8 ml	K-WUP-8	40 ml	K-WUP-40	-20 °C

Ważne informacje

DNA traktowany Egzonukleazą V nie może zawierać **EDTA oraz CaCl₂**. Rekomendujemy zawieszenie materiału w wodzie lub buforze Tris.

Proponowany protokół

1. Wymieszać wszystkie komponenty niezbędne do nastawienia reakcji:

	objętość reakcji
składnik	30 µl
matryca DNA	do 1 µg
Egzonukleaza V	1 µl
bufor do ExoV	3 µl
ATP (10 mM)	3 µl
woda ultraczysta	uzupełnić do 30 µl

3. Inkubować przez **30 min** w temp. **37 °C**.
4. Inaktywacja: Dodać **EDTA** do uzyskania stężenia 11 mM lub inkubować przez **30 min** w temp. **70 °C**.
5. Oczyszczyć poddane reakcji próbki z wykorzystaniem zestawu Clean-Up Concentrator [nr kat. 021-50C](#) i/lub przeprowadzać precipitację etanolem.



A&A BIOTECHNOLOGY
innovating life science

A&A Biotechnology, ul. Strzelca 40, 80-299 Gdańsk
tel. 883 323 761, 600 776 268
info@aabiotech.com, www.aabiotech.com

wersja 2024-2

