

## 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

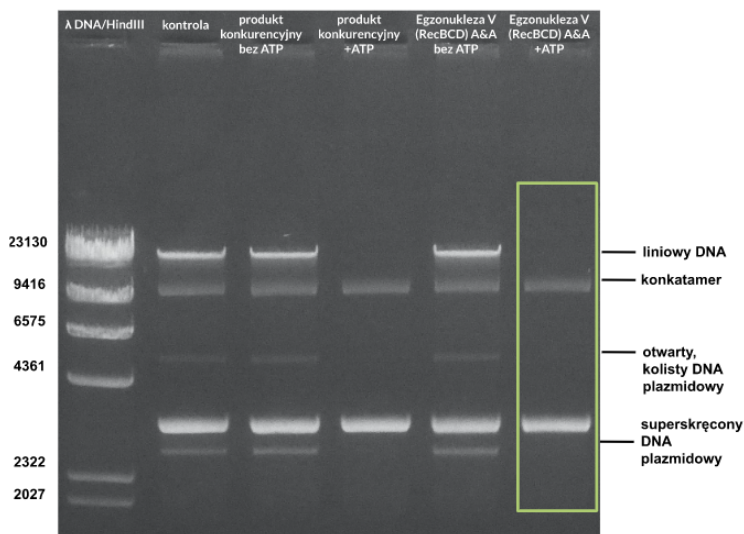
Firma A&A Biotechnology udziela gwarancji na niniejszy produkt.

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 pofragmentowanego 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 |
| <b>Egzonukleaza V</b>                                                                                                                                         |           |             |            |             |                |
| bufor do przechowywania:<br>100 mM MOPS pH 7,4, 2 mM MgCl <sub>2</sub> , 1 mM DTT,<br>0,1 mM EDTA, 50% glicerol                                               | 1000 U    | K-EXV-1000  | 2 x 2500 U | K-EXV-2500  | -20 °C         |
| <b>bufor do ExoV</b>                                                                                                                                          |           |             |            |             |                |
| 10x bufor reakcyjny ExoV:<br>500 mM CH <sub>3</sub> COOK, 200 mM Tris-CH <sub>3</sub> COOH<br>pH 7,9, 100 mM (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Mg, 10 mM DTT | 200 µl    | K-BEXV-200B | 5 x 200 µl | K-BEXV-200B | -20 °C         |
| <b>10 mM ATP</b>                                                                                                                                              | 200 µl    | K-ATP-200B  | 5 x 200 µl | K-ATP-200B  | -20 °C         |
| <b>woda ultraczysta</b>                                                                                                                                       | 8 ml      | K-WUP-8     | 40 ml      | K-WUP-40    | -20–25 °C      |

## Ważne informacje

DNA traktowany Egzonukleazą V nie może zawierać **EDTA oraz CaCl<sub>2</sub>**. Rekomendujemy zawieszenie materiału w wodzie lub buforze Tris.

## Proponowany protokół

1. Wymieszać wszystkie komponenty niezbędne do nastawienia reakcji:

|                         | objętość reakcji   |
|-------------------------|--------------------|
| <b>składnik</b>         | <b>30 µl</b>       |
| <b>matryca DNA</b>      | do 1 µg            |
| <b>Egzonukleaza V</b>   | 1 µl               |
| <b>bufor do ExoV</b>    | 3 µl               |
| <b>ATP (10 mM)</b>      | 3 µl               |
| <b>woda ultraczysta</b> | 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 2025-1

