

Exonuclease III

Code No. 2170A **Size:** **5,000 U**
Conc.: **200 U/ μ l**

Supplied Reagents:
10X Exonuclease III Buffer **1 ml**

Description:

E. coli Exonuclease III is a 3' → 5' exonuclease specific for double-stranded DNA. This enzyme has a strict specificity for double-stranded structures. So, it is possible to delete from blunt end, 3'-recessed end and nicking site, and it is impossible to delete from 3'-protruding end (Refer to Note). So by the double digestion with two restriction enzymes which generate different terminus respectively, the degradation from a single direction is possible. The final product is single-stranded complementary DNA and 5'-P mononucleotide. As the base dependence of this enzyme is low and the reaction rarely stops at GC rich site, this enzyme is suitable for construction of DNA deletion.

Storage Buffer:

| | |
|--------|------------------|
| 25 mM | Tris-HCl, pH 8.0 |
| 50 mM | KCl |
| 0.5 mM | DTT |
| 50% | Glycerol |

Storage: -20°C

Source: *Escherichia coli* BE257/pSGR3

Unit definition:

One unit is the amount of enzyme that produces 1 nmol of acid-soluble DNA fragments in 30 minutes at 37°C and pH 8.0, with restriction-digested calf thymus DNA as the substrate.

Reaction mixture for unit definition:

| | |
|-------------|-------------------|
| 50 mM | Tris-HCl, pH 8.0 |
| 5 mM | MgCl ₂ |
| 1 mM | DTT |
| 300 μ M | substrate DNA |

Quality Control Data:

Please see the Certificate of Analysis (CoA) for each lot. You can download the CoA on Takara Bio website.

Applications:

1. Producing partly single-stranded DNA to be used as substrate for DNA polymerase. The resulting DNA can be studied by dideoxy sequencing.^{3,4)}
2. Deletion of DNA fragments with a single-stranded DNA specific endonuclease such as S1 or Mung Bean Nuclease.³⁾ This enzyme has a strict specificity for double-stranded structures, so it is possible to delete from one end (for example, *EcoR* I site) of a double-digested DNA fragment (for example, *EcoR* I-*Pst* I fragment).⁴⁾
3. Analysis of the interaction between DNA and protein.⁵⁾

Note:

1. When stored for more than six months, it should be kept frozen at -80°C.
2. This enzyme may digest 3'-protruding termini depending on the end type of termini or sequence.

One base protruding type (*Eam* 1105 I, etc.)

Two base protruding type (*Pvu* I, *Sac* II, etc.)

Three base protruding type (*Sfi* I, etc.)

Four base protruding type

(The cutting termini of *Apa* I was confirmed to be digested with this enzyme. The termini cut by *Ban* II or *Bst*XI may be digested depending on a sequence.)

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

| | | |
|----------------------------|--------|-------------------|
| 10X Exonuclease III Buffer | 500 mM | Tris-HCl, pH 8.0 |
| | 50 mM | MgCl ₂ |
| | 10 mM | DTT |

* The supplied buffer gives the same composition as that used for the unit definition. The supplied buffer has the general composition to be applicable to the experiments: eg. construction of deletion mutant of plasmid DNA.

Application example:

| | |
|------------------------------------|-----------------------------|
| 5'-protruding end or blunt end DNA | 5 - 10 μ g (1 - 2 pmol) |
| 10X Exonuclease III Buffer | 10 μ l |
| Exonuclease III | 180 U |
| Sterile purified water | up to 100 μ l |

- Incubate at 37°C for 1 - 10min
- Inactivate the enzyme by heating at 65°C for 5 min

Use the reactant to the next reaction
(Under the above condition, approximately 300 bases will be removed every minutes)

References:

- 1) Rogers S G and Weiss B. *Methods in Enzymology*. (1980) **65**: 201-211.
- 2) Wu R, Ruben G, Siegel B, Jay E, Spielman P, and Tu C-P D. *Biochemistry*. (1976) **15**: 734-740.
- 3) Guo L-H and Wu R. *Methods in Enzymology*. (1983) **100**: 60-96.
- 4) James C D and Leffak I M. *Anal Biochem*. (1984) **141**: 33-37.
- 5) Wu C. *Nature*. (1985) **317**: 84-87.

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.

Exonuclease III

Code No. 2170A 容量： 5,000 U
濃度： 200 U/ μ l

添付試薬：
10 × Exonuclease III Buffer 1 ml

● 製品説明

本酵素は二本鎖 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' exonuclease である。

本酵素は二本鎖 DNA に対する特異性はきわめて高く、blunt end、3'-recessed end、さらに nicking site からの分解は起こるが、3'-protruding end は分解できない（使用上の注意参照）。したがって、異なる末端形状を与える制限酵素で double digestion することにより、一方からの分解が可能である。

最終生成物は一本鎖相補 DNA と 5'-P mononucleotide である。本酵素の塩基特異性は BAL 31 nuclease に比べて低く³⁾、例えば GC rich site で反応が停止する頻度は低いので、DNA のデレーション作製に向く。

● 形状 25 mM Tris-HCl, pH8.0
 0.5 mM DTT
 50 mM KCl
 50% グリセロール

● 保存 - 20°C
 6 ヶ月以上の長期保存の場合には、- 80°C 凍結保存

● 起源 *Escherichia coli* BE257/pSGR3 (B. Weiss 博士より供与)

● 活性の定義

37°C、pH8.0 において 30 分間に 1 nmol の酸不溶性物質を制限酵素処理仔牛胸腺 DNA から遊離させる酵素活性を 1 U とする。

● 活性測定用反応液組成

50 mM Tris-HCl, pH8.0
5 mM MgCl₂
1 mM DTT
300 μ M 制限酵素処理仔牛胸腺 DNA

● 品質管理データ

性能試験結果については、各ロットの Certificate of Analysis (CoA) をご覧ください。CoA はタカラバイオウェブサイトのドキュメントセンターからダウンロードできます。

● 用途

- 二本鎖 DNA フラグメントの部分分解による、DNA Polymerase の基質となる一本鎖 DNA の生成（生成した DNA は dideoxy 法によるシーケンシングに用いられる^{3,4)}）
- 一本鎖特異的 nuclease (S1 あるいは Mung Bean Nuclease) との併用による DNA フラグメントの欠失の作製³⁾ 本酵素は二本鎖構造に厳密な特異性を持つので、二重分解フラグメント（例：*EcoRI*-*PstI* フラグメント）に対しては、一方（例：*EcoRI* 側）からのみ欠失の作製が可能となる。
- DNA タンパク質の相互作用の解析⁵⁾

● 使用上の注意

酵素の性質上 DNA 末端が 3'-突出であってもその末端および配列によっては基質として消化する場合がある。

消化されることを確認した制限酵素切断末端の例

- 塩基突出型 (*Eam* 11051 等)
- 塩基突出型 (*Pvu*I、*Sac*II 等)
- 塩基突出型 (*Sfi*I 等)
- 塩基突出型 (*Apa*I 切断末端は消化されることを確認している。また、*Ban*II および *Bst*XI も配列によっては消化される可能性がある。)

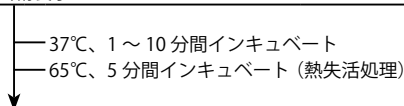
● 添付試薬組成 (保存：- 20°C)

500 mM Tris-HCl, pH8.0
50 mM MgCl₂
10 mM DTT

※このバッファー系は、プラスミド DNA のデレーションミュータント作製などの実験を行うのに一般的な組成となっており、活性測定系とも同じ組成である。

● 使用例

| | |
|-----------------------------|-----------------------------|
| 5' 突出または平滑末端 DNA | 5 - 10 μ g (1 - 2 pmol) |
| 10 × Exonuclease III Buffer | 10 μ l |
| Exonuclease III | 180 U |
| 滅菌精製水 | up to 100 μ l |



その後の反応に用いる。
(上記の条件で、1 分間に約 300 bp 程けずれる)

● 参考文献

- Rogers S G and Weiss B. *Methods in Enzymology*. (1980) **65**: 201-211.
- Wu R, Ruben G, Siegel B, Jay E, Spielman P, and Tu C-P. *Biochemistry*. (1976) **15**: 734-740.
- Guo L-H and Wu R. *Methods in Enzymology*. (1983) **100**: 60-96.
- James C D and Leffak I M. *Anal Biochem*. (1984) **141**: 33-37.
- Wu C. *Nature*. (1985) **317**: 84-87.

● 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。