

DNase I (RNase free) 使用说明书

产品组成

DNase I	2U/ μ l
Cat. No.	8003050
DNase I	0.5 ml
10 \times DNase I Buffer	1 ml
50 mM EDTA	1 ml
RNase-free Water	1.5 ml

产品储存与有效期

- 20 $^{\circ}$ C 储存，有效期 2 年。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本产品来源：大肠杆菌表达的 31 kd 重组 DNase I 蛋白。

DNase I, 即 Deoxyribonuclease I, 中文名称为脱氧核糖核酸酶 I, 是一种可以消化单链或双链 DNA 产生单脱氧核苷酸或单链或双链的寡脱氧核苷酸的核酸内切酶。DNase I 水解单链或双链 DNA 后的产物, 5'端为磷酸基团, 3'端为羟基。DNase I 活性依赖于钙离子, 并能被镁离子或二价锰离子激活。镁离子存在条件下, DNase I 可随机剪切双链 DNA 的任意位点; 二价锰离子存在条件下, DNase I 可在同一位点剪切 DNA 双链, 形成平末端, 或 1-2 个核苷酸突出的粘末端。本产品使用本公司特有的 DNase 和独特的反应液消化后不需要繁琐的苯酚/氯仿抽提灭活, 可直接用于反转录反应, 使用起来非常快速、简便。

活性单位定义:

37 $^{\circ}$ C、10 分钟内, 将能够完全降解 1 μ g pBR322 质粒 DNA 所需的酶量定义为 1 个活性单位。

纯度: 不含其它 DNA 内切酶和外切酶, 不含 RNA 酶。

适用范围：

制备不含 DNA 的 RNA 样品；RT-PCR 反应前 RNA 样品中去除基因组 DNA 等可能的 DNA 污染；体外 T7, T3, SP6 等 RNA Polymerases 催化的 RNA 转录后去除 DNA 模板；缺口平移(nick translation); DNase I Foot-printing 研究 DNA-蛋白质相互作用；产生 DNA 随机片断文库；细胞凋亡 TUNEL 检测中部分剪切基因组 DNA 作为阳性对照。

使用示例

1. 先将各组分在室温融化，并进行短暂离心，放在冰上备用。
2. 以 10 μ l 消化体系示例，在微量离心管中加入以下各种成分：

RNA	< 3 μ g (< 8 μ l)
10 \times DNase I Buffer	1 μ l
DNase I (2U/ μ l)	1 μ l
RNase Inhibitor (40 U/ μ l)	0.5 μ l (*可省略)
RNase-free Water	Up to 10 μ l

*当 RNA 量少于 50 ng 时，建议添加 RNase Inhibitor，以增加孵育过程中 RNA 的稳定性。

3. 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟。
4. 加 1 μ l 50 mM EDTA。
5. 65 $^{\circ}$ C 孵育 10 分钟，灭活 DNase I。
6. 取适量或者全部 10 μ l 的处理过的 RNA 直接用于反转录。

注意：

每 μ l DNase I 最多处理不超过 3 μ g RNA。如果需要处理的 RNA 量较多，应根据 RNA 的处理量按比例放大 DNase I、10 \times DNase Buffer 使用量和反应体积。如果处理后需要得到纯净 RNA，可以使用 Simgen RNA 纯化试剂盒（货号：5401050，适用于 \geq 5 μ g RNA 含量的样本纯化)在第 3 步后(37 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟后)直接清洁纯化和浓缩 RNA，无需添加 50 mM EDTA 和 65 $^{\circ}$ C 孵育 10 分钟的操作步骤。