

DNase I (RNase Free)

DNase I (RNase Free)

Code No. AG12001

包装量: 1000 U (5 U/μl)
保存温度: -20 °C

➤ 产品概述

本制品是通过体外重组方法得到的DNase I酶，不含动物成分。可以分解单链和双链DNA得到含有5' -P末端寡核苷酸，可用于RNA制备等。

➤ 活性定义

以小牛胸腺DNA为底物，在25°C、pH5.0的条件下，1分钟内使反应液的 A_{260nm} 增加0.001所需要的酶量定义为1个活性单位（U）。

➤ 保存

保存温度：-20°C

运输温度：干冰或者 -20°C 冰袋

➤ 产品组成

DNase I (RNase Free) (5 U/μl)	200 μl
10X DNase I Buffer	1 ml

➤ 纯度检测

10 U本酶与1 μg的16S/23S rRNA在37°C条件下反应4小时，RNA电泳条带无明显变化。

➤ 注意事项

反应时需要加入二价金属离子， Mg^{2+} 存在时，能随机使双链DNA产生切口； Mn^{2+} 存在时，双链DNA的两条链被分解为片段。加入EDTA可使酶可逆性失活，而75°C加热10 min则酶不可逆失活。

➤ 实验操作

(去除Total RNA中基因组DNA实验例)*⁴

组分名称	反应终浓度	加入量
Total RNA* ¹	~1 μg / μl	~50 μg
10X DNase I Buffer	1 x	5 μl
DNase I (RNase Free) (5 U/μl)* ²	0.2 U / μl	2 μl
RNase Inhibitor* ³	0.4 U / μl	20 U
RNase free water	-	Up to 50 μl

37 °C反应30 min*²

*1: 可根据需要调整Total RNA处理量。

*2: 如果基因组DNA没有去除干净, 可以适当增加DNase I用量或者延长反应时间。

*3: 可根据需要调整RNase Inhibitor用量, 如果反应体系可确保没有RNase污染, 则可以不用添加。

*4: 反应完成后可通过热处理 (80 °C 加热2~5 min) 或者苯酚/氯仿抽提方法使DNase I失活 (见附录)。

➤ 附录:

DNase I失活的方法:

A. 热处理

- (1) 在50 μl反应体系中, 80 °C 加热处理2~5 min。
- (2) 用RNase free water定容至100 μl。

B. 苯酚/氯仿抽提

- (1) 在50 μl反应体系中加入RNase free water 定容至 100 μl, 加入等体积的苯酚/氯仿/异戊醇 (25: 24: 1) 混匀。
- (2) 12,000 rpm, 室温离心 5 min, 取上清。
- (3) 加入等体积的氯仿/异戊醇 (24: 1) 混匀。
- (4) 12,000 rpm, 室温离心 5 min, 取上清。

乙醇沉淀纯化的方法:

- (1) 在上述反应液中加入 10 μl 3 M 醋酸钠和 250 μl 冷乙醇, 混匀后 -80°C 放置20~30 min。
- (2) 4°C, 12,000 rpm 离心10 min, 弃上清。
- (3) 加入70%冷乙醇洗净, 4°C, 12,000 rpm离心5 min, 弃上清。
- (4) 干燥沉淀。
- (5) 用适量的 RNase free water溶解。

详细信息请查阅 <https://www.agbio.com.cn>

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.