

DNase I, RNase-free

REF: EG22204S

储运条件

-20°C

产品组成

组分	规格
DNase I, RNase-free(1 U/μl)	1000 U
10×DNase I Buffer	1.25 ml

产品简介

本产品是重组表达来源的 DNase I (Deoxyribonuclease I), 中文名称为脱氧核糖核酸酶 I, 是一种可消化单链或双链 DNA 的脱氧核糖核酸内切酶, 它识别并切割磷酸二酯键, 产生 5' 端为磷酸基团, 3' 端为羟基的单脱氧核苷酸或单链或双链的寡脱氧核苷酸。

DNase I 的活性依赖于 Ca^{2+} , 并可被二价金属离子 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 等激活。在 Mg^{2+} 存在的情况下, 该酶可随机识别并切割双链 DNA 任意一条链上的任意位点; 而在 Mn^{2+} 存在的情况下, 可识别并切割 DNA 两条链上几乎相同的位点, 产生平末端或有 1~2 个核苷酸突出的粘末端 DNA 片段。

活性定义

1 活性单位 (U) 是指在 37°C 10 min 能够完全降解 1μg pUC19 质粒 DNA 所需要的酶量。

适用范围

1. 去除 RNA 样品中的基因组 DNA 污染。
2. 体外转录: 使用 RNA 聚合酶进行体外转录后, 用于模板 DNA 的去除。
3. 用于 DNase I 足迹法 (DNase I footprinting) 分析 DNA- 蛋白质相互作用。
4. 与 DNA Polymerase I 配合使用, 用于缺口平移法标记 DNA。
5. 用于 DNA 随机片段文库构建。
6. 细胞凋亡 TUNEL 检测中部分剪切基因组 DNA 作为阳性对照。

质量控制

蛋白质纯度

使用 SDS-PAGE 凝胶电泳检测, 蛋白纯度不低于 95%。

RNase 残留检测

将 1 U DNase I, RNase-free 与 500 ng 总 RNA 在 37°C 温育 1 h, 使用琼脂糖凝胶电泳检测超过 90% 的 RNA 仍保持完整。

使用方法

1. 去除 RNA 样品中的基因组 DNA 污染

加样体系:

组分	体积
RNA	1 μg
10×DNase I Buffer	1 μl
DNase I, RNase-free(1 U/μl)	1 μl
Nuclease-Free Water	up to 10 μl

反应条件: 37°C 15 min。

失活条件:

- ① 使用加入终浓度 5 mM EDTA 溶液混匀后 75°C 10min 进行热失活, EDTA 可避免 RNA 在加热过程中与反应体系中的二价阳离子发生水解。若进行此步热失活处理, 下游 RT-PCR 或 RT-qPCR 反应体系中需要额外补加终浓度 2.5 mM Mg^{2+} , 可避免反应体系中过量的 EDTA 影响下游 RT-PCR 或 RT-qPCR 反应。
- ② 使用柱纯化法或者苯酚 / 氯仿抽提失活 DNase I。

2. 体外转录后模板 DNA 的去除

操作步骤如下:

- ① 每 0.5 μg 模板 DNA 的转录反应体系中加入 1 U DNase I, 酶的量可以根据实际需要优化。
- ② 反应条件: 37°C 15 min。
- ③ 失活条件: 柱纯化法或者苯酚 / 氯仿抽提。

注意事项

1. 进行 RNA 样品操作时请在 RNase-free 管中进行加样。
2. 在使用本品进行 RNA 样品中 DNA 的去除实验时, 可在反应体系中添加终浓度 1 U/μl RNase Inhibitor, Murine (货号: EG20002S) 以保护 RNA 不被降解。
3. DNase I 对物理变性敏感, 混匀时请勿剧烈振荡。
4. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套及口罩进行实验操作。