

DNase I

目录号: BN27011 规格: 200U

产品描述:

DNase I (Deoxyribonuclease I, 脱氧核糖核酸酶I) 是一种可以将单链或双链DNA同等程度进行随机分解, 生成具有5'-P末端寡核苷酸的脱氧核糖核酸内切酶。DNase I水解单链或双链DNA, 其活性依赖于钙离子, 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能将双链DNA同时切断, 使DNA片段化。

产品用途:

- 1) 制备不含 DNA 的 RNA 样品;
- 2) RT-PCR 反应前 RNA 样品中, 去除基因组 DNA 等可能的 DNA 污染;
- 3) 体外 T7, T3, SP6 等 RNA 聚合酶催化的体外转录后去除 DNA 模板;
- 4) 用于足迹法 (Footprinting) 分析 DNA-蛋白质相互作用;
- 5) 与 DNA 聚合酶 I 一起用于切口平移;
- 6) 二价锰离子存在条件下, 使 DNA 片段化, 产生 DNA 随机片段文库;
- 7) 细胞凋亡 TUNEL 检测中部分剪切基因组 DNA 作为阳性对照。

使用实例:

一、去除RNA样品中污染的基因组DNA, 操作步骤如下:

1) 试剂溶化后, 在冰上配制如下反应体系:

模板 RNA	1μg
10×Reaction Buffer with MgSO ₄	1μl
DNase I (RNase Free), 1U/μl	1μl (1U)
RNase Inhibitor (40U/μl)	0.5-1μl (可不加)
RNase Free Water	至 10μl

2) 混匀后瞬时离心, 37℃ 孵育 30 分钟。

3) 加入终浓度为 2.5mM 的 EDTA, 65℃ 加热 10 分钟终止反应。RNA 在加热时容易降解, 可以用苯酚/氯仿抽提去除 DNase, 乙醇沉淀 RNA。

保存温度: -20℃。

产品包装:

产品组成	体积
BN27011 DNase I (RNase Free), 1U/μl	200μl
BN27011-A 10×Reaction Buffer with MgSO	1ml
BN27011-B 25mM EDTA	1ml

质量保证:

经多次柱纯化, SDS-PAGE胶检测仅可见清晰单一的目的条带, PCR方法检测无大肠杆菌 DNA 残留, 无RNase污染。

活性定义:

37℃ 10 分钟内, 将能够完全降解 1μg pBR322 质粒 DNA 所需的酶量定义为 1 个活性单位。

热失活:

加入终浓度为2.5mM的 EDTA, 65℃ 加热 10分钟, 即可失活。

注意事项:

1) 使用时将酶置于冰上操作, 使用完毕后 -20℃ 保存。

2) 金属离子螯合剂, 0.1%SDS, DTT, 巯基乙醇等对酶有抑制作用。

二、体外转录后去除 DNA 模板, 操作步骤如下:

1) 按照每 μg DNA 模板, 加入 2U DNase I, 注意酶的用量可根据实际需要优化。

2) 37℃ 孵育 15 分钟。

3) 加入终浓度为 2.5mM 的 EDTA, 65℃ 加热 10 分钟终止反应。RNA 在加热时容易降解, 可以用苯酚/氯仿抽提去除 DNase, 乙醇沉淀 RNA。