

Recombinant DNase I (RNase-free)

Code No. 2270A

包装量: 1,000 U
浓度: 5 U/μl

附带试剂: 10X DNase I Buffer

1 ml

制品说明:

本酶是将单链或双链 DNA 同等程度的随机分解, 生成具有 5' -P 末端寡核苷酸的脱氧核糖核酸内切酶。由于本酶已去除了蛋白酶和核酸酶, 从而提高了在 pH 中性区域的稳定性, 适用于 RNA 的制备。

酶贮存溶液:

20 mM	Tris-HCl, pH7.5 (4°C)
50 mM	NaCl
0.1 mM	CaCl ₂
50%	Glycerol

保存: -20°C

起源: Recombinant enzyme derived from non-animal host.

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 260 nm 吸光度增加 0.001 所需要的酶量定义为 1 个活性单位 (Kunitz Unit)¹⁾。

活性定义反应液:

100 mM	Sodium acetate, pH5.0(25°C)
5 mM	MgSO ₄
40 μg/ml	calf thymus DNA

质量控制:

请查阅各批次 Certificates of Analysis (CoA)。产品 CoA 请在 Takara Bio Inc. 网站中下载:

https://catalog.takara-bio.co.jp/search/doc_index.php。

用途:

1. 用 T7 或 SP6 RNA Polymerase 进行体外转录 (*In vitro* transcription) 时, 合成 RNA 后, 不必更换 Buffer, 使用 Recombinant DNase I (RNase-free) 即可将模板 DNA 降解²⁾。
2. 与 DNA Polymerase I (Code No. 2130) 一起用于切口平移²⁾。
3. 在 Mn²⁺ 存在的条件下, 为鸟枪法测序 (Shotgun sequencing) 制作 DNA 文库³⁾。
4. 用于足迹法 (Foot-printing) 分析 DNA-蛋白质相互作用⁴⁾。
5. 在进行 RT-PCR 反应前, 对基因组 DNA 进行降解。

使用注意:

本酶已除去蛋白酶, 在最中性 pH 范围内稳定。反应时需要二价金属离子参与, Mg²⁺ 存在时, 能随机使双链 DNA 产生切口; Mn²⁺ 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, 75°C 加热 10 分钟则不可逆性失活。

添附 Buffer 组成 (保存: -20°C):

10X DNase I Buffer	
400 mM	Tris-HCl, pH7.5
80 mM	MgCl ₂
50 mM	DTT

使用例:

除去 RT-PCR 样品中的基因组 DNA

1. 在微量离心管中配制下列反应液。

total RNA	20-50 μg
10X DNase I Buffer	5 μl
Recombinant DNase I (RNase-free)	2 μl (10 U)
RNase Inhibitor	20 U
DEPC-treated water	up to 50 μl

2. 37°C 反应 20~30 分钟。

3. 使用以下两种方法使 Recombinant DNase I 失活。

A. 热处理

- (1) 加入 2.5 μl 0.5 M EDTA, 混匀, 80°C 加热处理 2 min。
- (2) 用 DEPC treated water 定容至 100 μl。

B. 苯酚/氯仿抽提

- (1) 用 50 μl DEPC treated water 定容至 100 μl 后加入等体积的苯酚/氯仿/异戊醇 (25: 24: 1) 混匀。
- (2) 室温, 12,000 rpm 离心 5 min, 取上清。
- (3) 加入等体积的氯仿/异戊醇 (24: 1) 混匀。
- (4) 室温, 12,000 rpm 离心 5 min, 取上清。

4. 加入 10 μl 3 M 醋酸钠和 250 μl 冷乙醇, 混匀后 -80°C 放置 20 min。

5. 4°C, 12,000 rpm 离心 10 min, 弃上清。

6. 加入 70% 冷乙醇洗净, 4°C, 12,000 rpm 离心 5 min, 弃上清。

7. 干燥沉淀。

8. 用适量的 DEPC treated water 溶解后, 进行 Agarose 电泳确认是否除去基因组 DNA, 同时测定 RNA 的浓度。如果基因组 DNA 没有被完全除去, 可以适当增加 Recombinant DNase I (RNase-free) 的添加量或者延长反应时间。

参考文献:

- 1) Kunitz M. *J Gen Physiol*. (1950) **33**: 349-377.
- 2) Rigby P W J, Dieckmann M, Rhoads C, and Berg P. *J Mol Biol*. (1977) **113**: 237-251.
- 3) Anderson S. *Nucleic Acids Res*. (1981) **9**: 3015-3027.
- 4) Galas D J and Schmitz A. *Nucleic Acids Res*. (1978) **5**: 3157-3170.
- 5) Green M R, Maniatis T, and Melton D A. *Cell*. (1983) **32**: 681-694.

注意

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。

未经 Takara Bio Inc. 书面许可授权或批准, 不得制造、许诺销售、销售、进口 Takara 产品, 或者使用 Takara 产品所有的相关专利及相关商标。如果您需要其他用途的许可授权, 请联系我们, 或访问我们网站 www.takarabio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术 (北京) 有限公司翻译制作, 最新版本文件请参考 Takara Bio Inc. 网站。为正确使用 Takara 产品, 您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v202107Da