

Recombinant DNase I (RNase-free)

产品编号	产品名称	包装
D7070S	Recombinant DNase I (RNase-free)	200U
D7070M	Recombinant DNase I (RNase-free)	1000U
D7070L	Recombinant DNase I (RNase-free)	5000U

产品简介:

- Recombinant DNase I (RNase-free), 即Recombinant Deoxyribonuclease I (RNase-free), 中文名称为无RNA酶重组脱氧核糖核酸酶I, 是一种通过毕赤酵母(*Pichia Pastoris*)重组表达的高质量Bovine DNase I。本产品不含RNase (RNase-free)。
- 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[1]。
- **用途:** 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; DNase I footprinting研究DNA-蛋白质相互作用; 缺口平移(Nick translation); 产生DNA随机片段文库; 细胞凋亡TUNEL检测中部分剪切基因组DNA作为阳性对照。
- 碧云天同时提供牛胰腺纯化的DNase I (D7073/D7076)及耐盐的Recombinant DNase I-XT (耐盐型, RNase-free) (D7072)。
- **本产品活性好, 效果佳。**碧云天的Recombinant DNase I (RNase-free)与国外同类产品Competitor N对质粒DNA的消化效果参考图1。如图所示, 本产品与Competitor N相比, 效果基本一致。

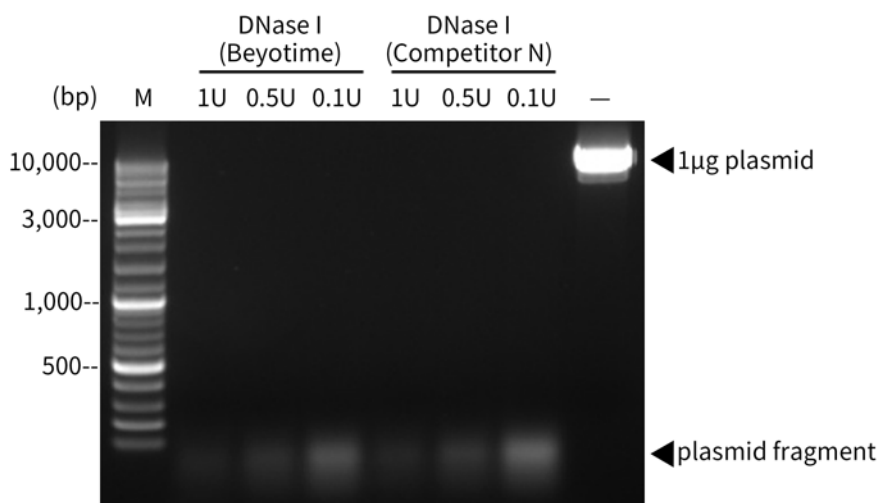


图1. 碧云天Recombinant DNase I (RNase-free) (D7070)消化质粒DNA的效果图。在20μl反应体系中, 加入1μg质粒DNA, 及相应量的本产品或Competitor N, 37°C孵育10分钟, 反应完毕后立即置于冰浴, 并加入3μl 100mM EDTA (pH8.0)以终止反应, 加入3μl DNA上样缓冲液(6X) (D0071), 在1%琼脂糖凝胶中电泳检测。实际结果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- **活性定义:** 37°C 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(Unit, U)。
- **酶储存溶液:** 10mM Tris (pH7.6), 10mM CaCl₂, 50% (v/v) glycerol。
- **Reaction Buffer (10X):** 100mM Tris (pH7.6), 25mM MgCl₂, 5mM CaCl₂。
- **失活或抑制:** 加入EDTA (pH8.0)至终浓度为10mM后, 65°C加热10分钟可使DNase I失活。酚氯仿抽提也可以使DNase I失活。金属离子螯合剂, 达到毫摩尔/升浓度的锌离子, 0.1%的SDS, DTT、巯基乙醇等还原剂, 50-100mM以上盐浓度均对DNase I有显著抑制作用。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D7070S-1	DNase I (1U/μl, RNase-free)	200μl
D7070S-2	Reaction Buffer (10X)	200μl

D7070S-3	100mM EDTA (pH8.0)	200μl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D7070M-1	DNase I (1U/μl, RNase-free)	1ml
D7070M-2	Reaction Buffer (10X)	1ml
D7070M-3	100mM EDTA (pH8.0)	1ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D7070L-1	DNase I (1U/μl, RNase-free)	5ml
D7070L-2	Reaction Buffer (10X)	5ml
D7070L-3	100mM EDTA (pH8.0)	5ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20℃保存，至少一年有效。

注意事项：

- 酶使用时宜存放在冰盒内或冰浴上，使用完毕后宜立即放置于-20℃保存。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. RT-PCR反应前RNA样品中DNA的去除：

- a. 向一无RNA酶的EP管中依次加入下列试剂：

Reagent	Volume
Ultrapure Water	(9-x)μl
Reaction Buffer (10X)	1μl
RNA	xμl (1μg)
DNase I (1U/μl)	1μl

注：如需处理较大的RNA样品，可以按照比例放大上述反应体系。如果能在上述反应体系中加入适量Ribonuclease inhibitor以防止RNA降解则更佳。

- b. 37℃孵育30分钟。
- c. 向上述反应体系中加入1μl 100mM EDTA (pH8.0)，65℃孵育10分钟以失活DNase I。
- 注：在没有整合剂如EDTA等存在情况下加热，RNA可被水解。
- d. 上述加热处理过的RNA样品即可直接用于处理好的RNA可用作RT-PCR反应的模板。

2. 体外RNA转录后模板DNA的去除：

- a. 在每含有0.5μg模板DNA的转录反应体系中加入1U DNase I。
- 注：在某些情况下，模板DNA完全消化所需的DNase I的量需通过实验进行摸索。
- b. 37℃孵育15分钟。
- c. 酚/氯仿抽提失活DNase I。

3. 缺口平移进行DNA标记：

- a. 参考如下表格设置反应体系：

Reagent	Volume
Ultrapure Water	(19.25-x-y)μl
Reaction Buffer (10X) for DNA Polymerase I	2.5μl
3 dNTP Mixture (1mM each, without the labeled dNTP)*	1.25μl
[α- ³² P]-dNTP, ~110TBq/mmol (3000Ci/mmol)	yμl (1.85-3.7MBq, 50-100μCi)
Template DNA	xμl (0.25μg)
DNase I (freshly diluted to 0.002U/μl)**	1μl
DNA Polymerase I, <i>E. coli</i> ***	1μl (10U)

*3 dNTP Mixture (1mM each, without the labeled dNTP)：分别去除已经标记的dNTP外的3种dNTP(100mM) 各1μl加入到97μl的无核酸酶的去离子水中混匀即可。例如标记的为dATP，则需混合dTTP、dCTP和dGTP三种dNTP至每种的最终浓度为1mM。配制好的dNTP可存放于-20℃以备后续使用。

**DNase I可以用1X Reaction Buffer for DNA Polymerase I进行稀释。
Reaction Buffer (10X) for DNA Polymerase I: 500mM Tris (pH7.5), 100mM MgCl₂, 10mM DTT。
***DNA Polymerase I, *E. coli*的用量可以在5-15U范围内适当调节。

- b. 立即15°C孵育15~60分钟。
- c. 上述反应体系中加入1μl of 0.5M EDTA (pH8.0)终止反应。
- d. 从中取出少量例如1μl检测标记效率。通常标记效率至少可以达到10⁸cpm/μg DNA。
- e. 可用Sephadex G-50或Bio-Gel P-60去除[α-³²P]-dNTP, 以纯化获得标记的DNA。

4. 其它用途可以参考上述用途进行。

参考文献：

1. Suck D. J Mol Recognit. 1994. 7(2):65-70.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D7070	Recombinant DNase I (RNase-free)	200/1000/5000U
D7072	Recombinant DNase I-XT (耐盐型, RNase-free)	200/1000/5000U
D7073	DNase I	200U
D7076	DNase I	1000U
D7078	Thermolabile dsDNase	50/250次
D7121	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)	5/25/100/500/2000KU
D7126	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%, with His-tag)	5/25/100/500/2000KU
D7195	蛋白A-微球菌核酸酶(pA-MNase)	60/300KU
D7197	蛋白G-微球菌核酸酶(pG-MNase)	60/300KU
D7199	蛋白AG-微球菌核酸酶(pAG-MNase)	60/300KU
D7201	微球菌核酸酶(Micrococcal Nuclease, MNase)	320/1600KU
P0345	DNase活性荧光检测试剂盒	100/500次
P0346	DNase I残留检测试剂盒	100/500次
ST576	RNase A (10mg/ml, DNase free)	1ml
ST577	RNase A (100mg/ml, DNase free)	0.5ml