

产品组分

组分名称	组分目录号	规格-1 1,000 U	规格-2 5,000 U
DNase I, RNase-free (5,000 U/mL)	RM21312	200 μ L	1 mL
10X DNase I Buffer	RM20266	1 mL	1 mL $\times$ 5
1X DNase I Dilution Buffer	RM20195	1 mL	1 mL $\times$ 5
10X Stop Buffer	RM20196	1 mL	1 mL $\times$ 5

产品说明

DNase I (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如 Mn^{2+} , Zn^{2+} 等激活。5 mM Ca^{2+} 可保护酶使其不被水解, 而在 Mg^{2+} 存在下, 该酶可随机识别和切断 DNA 任一条链上的任意位点; 在 Mn^{2+} 存在的条件下, 可同时识别 DNA 的两条链并在几乎相同的位点进行切割。形成平末端或有 1-2 个核苷酸突出的粘末端 DNA 片段。

运输及保存温度

冰袋运输, -20°C 保存

产品来源

牛胰腺 DNase I 在酵母表达体系中表达并分离纯化得到。

活性定义

1 活性单位(U)指在 37°C 条件下, 10 分钟完全降解 1 μg pBR322 DNA 所需要的酶量。

酶储存液

10 mM Tris-HCl, 2 mM CaCl_2 , 50% Glycerol, pH 7.6 @ 25°C

酶失活

Stop Buffer 中含有螯合剂用于去除二价阳离子, 进行加热失活前, 必须加入 Stop Buffer 并混合均匀, 再进行热失活, 否则可能会导致 RNA 降解。

操作说明

1、在 RNase-free 反应管中按照下表比例配置反应液 (以 10 μL 体系为例)。

组分	使用量
RNA	X μg
10X DNase I Buffer	1 μL
DNase I, RNase-free (5U/ μL)	1 U per μg RNA*
ddH ₂ O	Up to 10 μL

*注意: 根据 RNA 量, 计算需要加入的 DNase I 体积。

- 2、37°C 孵育 15 min。
- 3、加入 1 μ L 10X Stop Buffer 终止反应，65°C加热 10 min 使 DNaseI 失活，样本可直接进行下一步反转录实验。

注意事项

- 1、每 μ g RNA 使用 1 U DNase I，如果 RNA 少于 1 μ g，请使用 1 U DNase I。
- 2、为避免酶失活过程中 RNA 被降解，应添加终浓度为 5 mM 的 EDTA，如已使用 10X Stop Buffer，则无需额外添加。