

产品简介

DNase I (无 RNase) 是一种非特异性核酸内切酶, 来源于含有牛胰腺 DNase I 基因融合重组克隆的 *E. coli* 菌株。该酶识别切割单链 DNA、双链 DNA、染色质和 RNA-DNA 杂交链上的磷酸二酯键, 产生具有 3' 羟基和 5' 磷酸末端的二核苷酸、三核苷酸和寡核苷酸产物; 精心优化的含有 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 等阳性离子缓冲液, 使 DNase I 获得高效稳定的酶切活性, 具有酶切位点随机, 可产生平末端或有 1 - 2 个核苷酸突出的粘末端 DNA 片段等特点, 兼容多种产品技术方案中的 DNA 去除需求。

产品优点

酶切活性高效专一;
切割 DNA 类型丰富;
规模化生产批次稳定;
无 RNase 残留。

产品组成

组成	E103 (1,000 U)
DNase I (1 U/ μl)	1 ml
10 × DNase I Buffer	1 ml

储存条件

-20°C 保存, 于 -20 ~ 0°C 运输。▲ 避免反复冻融。

单位定义

1 个活性单位指 50 μl 反应体系中, 37°C 条件下, 10 min 完全分解 1 μg pBR322 DNA 所需要的酶量。

质量控制

RNase 残留检测: 20 U 本品和 1 μg HeLa 细胞总 RNA 在 37°C 下孵育 30 min, RNA 的电泳谱带不发生变化。
大肠杆菌残留 DNA 残留检测: 50 μl 体系中, 以 ddH₂O 为模板, 扩增 *E. coli* 16 s rDNA 基因。30 个循环后进行 1% 琼脂糖凝胶电泳, 染色, 无扩增条带。

产品应用

1. 纯化体外转录的 RNA，本司相关产品 T7 High Yield RNA Synthesis Kit (ATG #RM201)；
2. 逆转录前除去基因组 DNA，本司相关产品 ATGScript® RT mix for qPCR(+gDNA wiper) (ATG #R113)；
3. 产生 DNA 随机片段文库；
4. DNase I 印迹分析。

实验应用及流程

A. 体外转录实验后产物中模板 DNA 的除去

1. 在每 0.5 µg 模板 DNA 的转录反应体系中加入 DNase I 1 U；
2. 用移液枪吹打混匀，不可漩涡混匀，37°C 15 min；
3. 酚/氯仿抽提失活 DNase I 以纯化 RNA。

B. 基因组 DNA 去除

1. 在 RNase-free 离心管中配制如下混合液：

RNase Free ddH ₂ O	to 10 µl
10 × DNase I Buffer	1 µl
DNase I	1 µl
RNA	1 µg

2. 用移液器轻轻吹打混匀，37°C 10 min；
3. 加入 1 µl EDTA (终浓度为 5 mM)
4. 在 75°C 下加热灭活 10 min。

处理后的 RNA 样本可作为模板用于后续的 RT-PCR 反应。

实验案例

1. 在 RNase-free 离心管按表 1 做以下配比，37°C 孵育 10 min；

表 1 DNase I 功能检测

组分	A 组	B 组	C 组	D 组	E 组	F 组
DNase I	/	/	0.5 U	1 U	10 U	100 U
Yeast RNA(1 µg/µl)	2 µl	/	2 µl	2 µl	2 µl	2 µl
DNA(360 ng/µl)	/	2 µl	2 µl	2 µl	2 µl	2 µl

2. 添加 EDTA (最终浓度为 5 mM)；

3. 在 75°C 加热灭活 10 min, 得到结果如图 1 所示;



图 1 DNase I 酶切效果展示

4. 按表 1 D 组配制体系, 并以同行竞品 DNase I 做对比, 得到结果如图 2 所示。

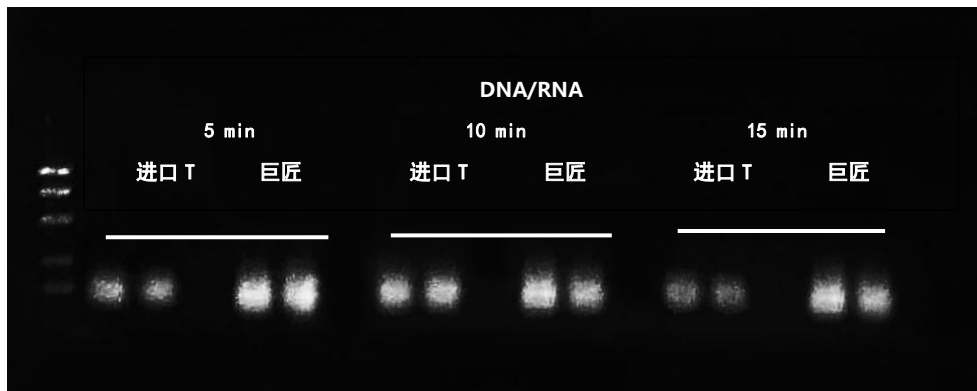


图 2 竞品对比

酶切效率高: 0.5 U 的 Dnase I, 37°C 孵育 5 min 即可高效降解 DNA 片段。

特异性强: 经检测, 不同反应条件下本品均对 RNA 无破坏, 即无 RNase 残留。