

Superbrilliant® DNase I (含 RNA 酶抑制剂)

Superbrilliant® DNase I (with Rnase Inhibitor)

Cat.No.: ZS-M11009

组分

货号	名称	ZS-M11009S (1000 U)	ZS-M11009M (2500 U)	ZS-M11009L (10000 U)
103020	*RNase Free DNase I (10 U/μl)	100 μl	250 μl	1 ml
103017	10×Reaction Buffer	500 μl	1250 μl	5 ml
103019	10× Reaction Stop Buffer	500 μl	1250 μl	5 ml

储存: -20°C 可保存 2 年。

简介: 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。其原理为 DNase I 水解磷酸二酯键产生带有 5'-磷酸基团和 3'-OH 的单核苷酸或寡核苷酸。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。由于 DNase I (with Rnase Inhibitor) 中 Protease 已几乎被完全去除, 从而提高了该酶在 pH 中性区域的稳定性。此外该酶中添加了 Rnase Inhibitor, 用于抑制 RNA 样品中残留的 Rnase 核酸酶, 因此可以有效抑制 RNA 提取过程中 Rnase 酶对 RNA 的降解。Stop Buffer 终止反应后, 可通过一步加热失活 DNase I 活性。

*该 DNase I (10 U/μl) 中含有 20 U/μl 的 Rnase Inhibitor, 故进行消化试验时不需要再额外添加 Rnase Inhibitor。

活性定义

以小牛胸腺 DNA 为底物, 在 25℃、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)。

纯度

10 U 的本酶和 1 μg 的 16S, 23S rRNA 在 37℃、pH7.5 的条件下反应 1 小时, RNA 的电泳谱带不发生变化。

应用: 去除 RNA 样品中的 DNA 污染。

操作方法（去除 RNA 中的基因组 DNA 污染）

1. 按以下组分配制反应体系

RNA	10~50 µg
10× Reaction Buffer	5 µl
Rnase Free DNase I (10 U/µl)	1 µl*
Rnase Free H ₂ O	Up to 50 µl

*若 RNA 样品中含有超过 5 µg 基因组 DNA 污染，请使用 2 µl 该酶。

2. 37°C 孵育 10min 以消化去除基因组 DNA。

3. 孵育完毕后加入 5 µl 10× Reaction Stop Buffer，混合均匀室温放置 1min，并置于 75°C 10min 加热失活 DNase I。样品可直接用于下一步反转录等试验。

注意：

1) 通常加热方法即可失活 DNase I。如需要去除残留的变性蛋白，可在 37°C 消化完毕后使用酚氯仿抽提并沉淀 RNA 样品（不进行加热操作）。

2) 10× Reaction 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 5 µl 10× Reaction Stop Buffer 并混合均匀，再进行热失活，否则会导致 RNA 降解。

3) 处理完毕的 RNA 样品进行一步反转录反应时，添加量需要<20%（如 20 µl 的反转录体系中加入量要<4 µl）