

货号	名称	包装	保存条件
RP2601	RNase-Free DNase	1000U	-20℃

## 产品组成:

组分名称	规格
10×Reaction Buffer	1ml
RNase-Free DNase	1ml
Stop Solution	1ml

## 试剂介绍:

(RNA-Qualified) RNase-Free DNase is a DNase I(内切酶)可以将双链和单链 DNA 降解为 3'-OH 寡核苷酸。( RNase-Free DNase 可用于对 RNA 完整性有至关重要要求的实验) DNase I 适用于切口平移、随机片段产生、印迹法中基因组 DNA 清除、体外转录后 DNA 模板的清除以及以 RNA 为样本的下游实验(如 RT-PCR)中 DNA 的去除。

在  $Mg^{2+}$  存在条件下, DNase I 分别切割 DNA 的每条链,且切割位点为随机的方式。在  $Mn^{2+}$  存在条件下,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,从而使 DNA 片段化。

**10×Reaction Buffer:** 400mM Tris-HCl (pH 8.0) , 100mM  $MgSO_4$ , 10mM  $CaCl_2$ .

**酶储存 Buffer:** RQ1 DNase 分散于 10mM HEPES (pH 7.5) , 50% 甘油(v/v),10mM  $CaCl_2$ ,10 mM  $MgCl_2$ .

**热灭活:** Stop Solution 中 65℃ 10 min.

**抑制剂:** EGTA,EDTA,盐浓度>100mM 会降低 DNase 活性.

**分子量:** 31,000 Da.

**必要条件:**  $Ca^{2+}$ 和  $Mg^{2+}$ 或  $Mn^{2+}$ .

**来源:** 牛胰腺

**储存温度:** -20℃保存。避免暴露于温度频繁变化的环境。关注产品信息标签的保质期。

**Stop Solution:** 20mM EGTA(pH 8.0).

**活力单位定义:** 1u 的 RNase-Free DNase 为 37℃条件下 10min, 可完全降解 1ug lambda DNA。

## 使用说明:

1. 本品不含 RNase 抑制剂,使用时需注意防止 RNase 污染。

- 在不同的缓冲体系条件下,消化定量的 DNA 的 DNase 的用量根据经验确定,例如,盐浓度高于 100 mM 时 DNase 活性受到抑制。

## DNase Treatment of RNA Samples Prior to RT-PCR

- 配制反应体系

RNA in water or TE buffer	1-8 ul
10×Reaction Buffer	1 ul
RNase-Free DNase	1u/ug RNA
Nuclease-free water to a final volume of	10 ul

- 37℃ 孵育 30 min。

**注意:** 如果 RNA 样品需要电泳分析,在点样之前,需进行苯酚氯仿抽提和乙醇沉淀,这是因为 DNase Reaction Buffer 和 Stop Solution 中的盐分会引起 RNA 在凝胶中的异常迁移。如果进行酚仿抽提,则步骤 3,4 也可省略。

- 加入 1 ul DNase Stop Solution 终止反应。
- 65 °C 孵育 10 min 灭活 DNase。
- 加入全部或部分的处理的 RNA 进行后续 RT-PCR 反应。

## 说明

- 1u 的 RNase-Free DNase 可处理 1 ug RNA。对于更少量的 RNA,最少使用 1u 的 DNase。
- RNase-Free DNase 消化体系中包含终浓度 10mM 的  $MgSO_4$ 。当向 RT-PCR 反应中加入处理的 RNA 时,需考虑携带的  $Mg^{2+}$ 。例如,向 50 ul RT-PCR 反应体系中加入 1 ul 处理的 RNA,将会提高反应体系中  $Mg^{2+}$  浓度 0.2 mM,加入 5 ul 处理的 RNA,将会提高反应体系中  $Mg^{2+}$  浓度 1mM。DNase 消化步骤和扩增步骤需要的  $Mg^{2+}$  的量可能不同。

- 随着  $Mg^{2+}$  浓度从 5-10mM 提高, DNase 的活性随之增加。在 1mM  $Mg^{2+}$  体系中, DNase 的活性与理想条件下的活性相比,降低 4 倍。
- 对于某些模板,扩增的产量高度取决于  $Mg^{2+}$ ,最佳的  $Mg^{2+}$  浓度可能低至 1mM。

如果增加的  $Mg^{2+}$  浓度不适于后续扩增反应,可采取替代以下替代步骤。

- RNase-Free DNase 10×Reaction Buffer 按照 1: 10 比例稀释于 400mM Tris (pH 8.0), 10 mM  $CaCl_2$  (需要注意的是,在这种条件下, DNase 的活性可能低于标准反应条件 4 倍或更多)。
- 可用其他替代的 Reaction buffer,例如 RT 或 PCR 的 reaction buffer,但需至少含有 1mM  $Mg^{2+}$ 。
- RNA 样品用水溶解使  $MgSO_4$  稀释以适用于后续的扩增。
- RNA 可用标准的酚仿抽提和乙醇沉淀法进行纯化。