

Rnase Free DNase I

Cat. No.: D3001 Size: 1000U



描述: 该酶是将单链或双链 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。由于 RNase-free DNase I 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。

组分

名称	数量
*Rnase Free DNase I (2 U/μl)	500 μl
10× RD Buffer	1 ml
10× RD Stop Buffer	1 ml

*Rnase Free DNase I (2 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

在 50 μl 体系下, 37°C 10min 条件下完全消化 1 μg pBR322 质粒 DNA 所需的酶量定义为 1 个活性单位。

纯度

2 U 的本酶和 1 μg 的 16S, 23S rRNA 在 37°C、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。

储存: -20°C 可保存 2 年。

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	1~50 μg
10× RD Buffer	2 μl
Rnase Free DNase I (2 U/μl)	1 μl*
Rnase Free H ₂ O	Up to 20 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 15min 以消化去除基因组 DNA。

3. 孵育完毕后加入 2 μl 10× RD 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× RD 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 2 μl 10× RD 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)