



DNase I (1U/μL) 说明书

货号: WGD-X-3100032

产品介绍

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、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 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 等激活。在 Mg^{2+} 存在的情况下, 该酶可随机识别并切割双链 DNA 任意一条链上的任意位点; 而在 Mn^{2+} 存在的情况下, 可识别并切割 DNA 两条链上几乎相同的位点, 产生平末端或有 1~2 个核苷酸突出的粘末端 DNA 片段。

产品目录

产品名称	规格
DNase I (1U/μL)	1 mL

产品组成

组分	含量
DNase I (1U/μL)	1 mL
10× DNA 消化缓冲液	1 mL

产品用途

适用于 RNA 提取、体外转录、RT-PCR 实验中 DNA 的去除, DNase I 印迹 (DNase I footprinting), 缺口平移 (nick translation), DNA 随机片段文库构建等分子生物学实验。

产品特点

- 1. 无 RNA 酶, 不降解 RNA;
- 2. 活性高, DNA 去除效果佳。

注意事项

- 1. 37 °C 孵育 10 min, 将能够完全降解 1 μg pUC19 质粒 DNA 所需的酶量定义为 1 个活性单位 (U);
- 2. 部分实验条件下, DNase I 的最佳用量需要通过实验进行调整;
- 3. 失活或抑制: 加入终浓度为 5 mM 的 EDTA 并经过 65 °C 加热 10 min, 或通过酚氯仿抽提可使 DNase I 失活。此外, 金属离子螯合剂、0.1% 的 SDS、DTT、巯基乙醇等还原剂、50 ~ 100 mM 以上盐离子均对 DNase I 的活性有显著抑制作用;
- 4. 本产品仅限科研使用。

使用方法

- 1. 与 RNA 提取试剂盒配套使用 (上柱过程)
 - a. 本试剂盒提供的 DNase I 和 10× DNA 消化缓冲液, 能够与柱式 RNA 提取试剂盒配套使用, 在上柱吸附的过程中有效去除 DNA, 且 DNase I 会在随后的洗脱过程中去除 (以下操作步骤是与 RNA 提取系列试剂盒配套使用的, 其中的去蛋白液为 RNA 提取系列试剂盒提供);
- 注意: 普通的 DNA 消化缓冲液可能并不适用于上柱吸附的过程中消化 DNA, 使用其他的缓冲液可能会影响 RNA 和膜的结合, 导致 RNA 产量的降低。



b. DNase I 工作液的配制:取 8 μL DNase I 放入新的 RNase-Free 离心管中, 加入 8 μL 10 $\times$ DNA 消化缓冲液和 64 μL DEPC 水, 轻柔混匀;

注意: DNase I 的最佳使用量需要根据试剂盒要求进行调整, DNase I 工作液的配制配方为: X μL DNase I + 8 μL 10 $\times$ DNA 消化缓冲液 + Y μL DEPC 水 = 80 μL 。

c. DNase I 消化: 向吸附柱中加入 350 μL 去蛋白液, 12,000 rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心 30 ~ 60 s, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中; 向吸附柱中央加入 80 μL 的 DNase I 工作液, 室温放置 15 min;

d. 向吸附柱中加入 350 μL 去蛋白液, 12,000 rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心 30 ~ 60 s, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中, 继续按照 RNA 提取系列试剂盒操作步骤, 直至最终洗脱得 RNA。

2. 体外转录后模板 DNA 的去除

a. 每 0.5 μg 模板 DNA 的转录反应体系中加入 1 U DNase I;

b. 用移液枪轻轻吹打混匀, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 15 min;

c. 酚/氯仿抽提失活 DNase I。

■ 储存运输条件

-25 ~ -15 $^{\circ}\text{C}$ 保存, 保质期 24 个月。

-25 ~ -15 $^{\circ}\text{C}$ 运输。

■ 常见问题及解决方法

问题	可能原因	解决办法
DNA 消化不完全	DNase I 使用量不够。	增加 DNase I 的使用。
	体系中存在抑制酶活的物质, 如 EDTA 等。	增加 10 $\times$ DNA 消化缓冲液的使用。