

Rnase Free DNase I 说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

描述：

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。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 (10 U/ μ l)	100 μ l
10 \times RD Buffer	500 μ l
10 \times RD Stop Buffer	500 μ l

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

活性定义

以小牛胸腺 DNA 为底物，在 25 $^{\circ}$ C、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 μ g 的 16S, 23S rRNA 在 37 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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	10~50 μ g
10 \times RD Buffer	5 μ l
Rnase Free DNase I (10 U/ μ l)	1 μ l*
Rnase Free H ₂ O	Up to 50 μ l

*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 \times 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 \times 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 5 μl 10 \times 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)