

DNase I

产品信息

产品名称	产品编号	产品规格
DNase I	E20401	500U
	E20402	1000U

产品说明

DNase I (Deoxyribonuclease I, 即脱氧核糖核酸酶I) 是一种识别并切割磷酸二酯键的脱氧核糖核酸内切酶, 可消化单链或双链DNA产生的5'端为磷酸基团, 3'端为羟基的单脱氧核苷酸或寡脱氧核苷酸。DNase I的活性依赖于Ca²⁺, 并可被二价金属离子Mg²⁺、Mn²⁺等激活。在Mg²⁺存在的情况下, DNase I可随机识别并切割双链DNA任意一条链上的任意位点; 而在Mn²⁺存在的情况下, 可识别并切割DNA两条链上几乎相同的位点, 得到平末端或有1-2个核苷酸突出的粘末端DNA片段。

产品组分

组分	E20401 (500U)	E20402 (1000U)
DNase I	500μl	1000μl
10×reaction buffer	500μl	1000μl

活性定义

37°C 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)。

质量控制

经多次柱纯化, SDS-PAGE胶检测仅可见清晰单一的目的条带, PCR方法检测无大肠杆菌DNA残留, 无RNase污染。

保存方法

-20°C保存, 避免反复冻融。

注意事项

1. 部分实验条件下, DNase I的最佳使用量需要通过实验进行调整。
2. 加入终浓度为2.5 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。
3. 使用金属离子螯合剂, 0.1%的SDS, DTT、巯基乙醇等还原剂均对DNase I的活性有显著抑制作用。
4. 酶在使用时应保存在冰盒或冰浴中, 使用后应立即保存在-20°C。



应用实例

1. RT-PCR反应前, RNA样品中DNA的去除

(1) 试剂溶化后, 在冰上配制如下反应体系:

分组	体积 (ul)	终浓度
10×Reaction Buffer	1	1x
RNA	---	---
DNase I (1U/ul)	1	0.1 U/ul
RNase-free ddH ₂ O	补至10ul	

(2) 37°C 孵育15min。然后在反应液中加入50mM EDTA 1ul终止反应, 65°C反应10min。处理后的样本即可以作为RT-PCR模板。

2. 体外转录中模板DNA的去除。

(1) 每μg模板DNA的转录反应体系中加入2U DNase I。

(2) 用移液枪轻轻吹打混匀, 37°C孵育 15 min。

(3) 酚/氯仿抽提失活DNase I, 乙醇沉淀RNA。

