

DNase I 柱上消化试剂盒说明书

产品组成

DNase I 柱上消化试剂盒	5 次制备	50 次制备
Cat. No.	8010005	8010050
DNase I	28 μ l	270 μ l
Buffer RDD	250 μ l	2.5 ml
Buffer WA (浓缩液)	1.9 ml	12 ml
说明书	1 份	1 份

产品储存与有效期

- 20°C 储存，有效期 2 年。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本产品来源：大肠杆菌表达的 31kd 重组 DNase I 蛋白，不含其它 DNA 内切酶和外切酶，不含 RNA 酶。

DNase I, 即 Deoxyribonuclease I, 中文名称为脱氧核糖核酸酶 I, 是一种可以消化单链或双链 DNA 产生单脱氧核苷酸或单链或双链的寡脱氧核苷酸的核酸内切酶。

本产品能有效去除 DNA, 可与 Simgen 公司的 RNA 系列试剂盒配套使用, 也可直接用于 RNA 溶液中 DNA 的消化。

纯度

不含其它 DNA 内切酶和外切酶, 不含 RNA 酶。

使用前准备

根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 中加入无水乙醇, 并在标签的方框中打勾作好“乙醇已加”的标记。

操作步骤

一、与 Simgen 公司 RNA 系列试剂盒配套使用（上柱过程）

本试剂盒提供的特殊 Buffer RDD，能够与离心柱型 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。

*注意：普通的 DNase Buffer 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。

1. **DNase I 工作液的配制：**每个反应取 5 μl DNase I，加入 45 μl Buffer RDD，勿弃吸头，直接用移液器温和地吹打几次混合均匀。
2. **接 RNA 系列试剂盒如下的操作步骤：**“弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 500 μl Buffer WA，盖上管盖，离心（具体的转速和时间按照所用试剂盒操作步骤设定）”。
3. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，向吸附柱中央加入步骤 1 配好的 50 μl DNase I 工作液，室温(20-30 $^{\circ}\text{C}$)放置 15 min。
4. 加入 500 μl Buffer WA（本产品配备），盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。

5. **接 RNA 系列试剂盒如下步骤：**“弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 600 μl Buffer WBR”。继续按照 RNA 系列试剂盒说明书操作，直至最终洗脱 RNA 分子。

*注意：后续实验请按照所用试剂盒说明书继续进行。

二、直接处理 RNA 溶液

1. 在 RNase-Free 的离心管中建立如下反应体系：

$\leq 87.5 \mu\text{l}$ RNA 溶液

10 μl Buffer RDD

2.5 μl DNase I

用 RNase-Free Water 补充体系至 100 μl 。

2. 20-30 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min。
3. 纯化 RNA，可使用 RNA 清洁试剂盒（Simgen Cat. No. 5401050，适用于 $\geq 5 \mu\text{g}$ RNA 的样本纯化，用户自备）。

*注意：由于处理完的 RNA 中引入了 DNase I 及不同浓度盐离子，可能对后续的实验造成影响，为确保下一步操作顺利进行，建议使用过柱纯化的方法对 RNA 进行纯化操作。如只需对 DNase I 进行简单的失活处理，可在第 3 步处理完后向体系中加入 10 μl 20 mM EDTA, pH8.0，65 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min 失活 DNase I。

*注意：每 μl DNase I 最多处理不超过 3 μg RNA。如果需要处理的 RNA 量较多，应根据 RNA 的处理量按比例放大 DNase I、Buffer RDD 使用量和反应体积。