



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
 订货热线: 400-1683301或800-8283301
 订货e-mail: order@beyotime.com
 技术咨询: info@beyotime.com
 网址: http://www.beyotime.com

DNase I

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|-------|---------|------|
| D7073 | DNase I | 200U |

产品简介:

- 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。DNase I水解单链或双链DNA后的产物, 5'端为磷酸基团, 3'端为羟基。
- DNase I活性依赖于钙离子, 并能被镁离子或二价锰离子激活。镁离子存在条件下, DNase I可随机剪切双链DNA的任意位点; 二价锰离子存在条件下, DNase I可在同一位点剪切DNA双链, 形成平末端, 或1-2个核苷酸突出的粘末端。
- **特点:** 不含RNase (RNase free), 可以用于各种RNA样品的处理。提供了用于DNase I失活所需的EDTA。
- **用途:** 制备不含DNA的RNA样品; RT-PCR反应前RNA样品中去除基因组DNA等可能的DNA污染; 体外T7, T3, SP6等RNA Polymerases催化的RNA转录后去除DNA模板; DNase I footprinting研究DNA-蛋白质相互作用; 缺口平移(nick translation); 产生DNA随机片段文库; 细胞凋亡TUNEL检测中部分剪切基因组DNA作为阳性对照。
- **来源:** 从牛胰腺纯化得到。
- **分子量:** 约 32kDa(单体)。
- **活性定义:** 37°C10分钟内, 将能够完全降解1μg pBR322质粒DNA所需的酶量定义为1个活性单位。
- **活性检测条件:** 40mM Tris-HCl (pH8.0), 10mM MgSO₄, 1mM CaCl₂, 1μg of pBR322 DNA。
- **纯度:** 不含其它DNA内切酶和外切酶, 不含RNA酶。
- **酶储存溶液:** 50mM Tris-acetate (pH7.5), 10mM CaCl₂, 50% (v/v) glycerol。
- **Reaction Buffer (10X):** 100mM Tris-HCl (pH7.5 at 25°C), 25mM MgCl₂, 1mM CaCl₂。
- **失活或抑制:** 加入EDTA至终浓度为2.5mM后, 65°C加热10分钟可使DNase I失活。酚氯仿抽提也可以使DNase I失活。金属离子螯合剂, 达到毫摩尔/升浓度的锌离子, 0.1%的SDS, DTT、巯基乙醇等还原剂, 50-100mM以上盐浓度均对DNase I有显著抑制作用。

包装清单:

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|---------|-----------------------------|-------|
| D7073-1 | DNase I, RNase-free (1U/μl) | 200U |
| D7073-2 | Reaction Buffer (10X) | 0.2ml |
| D7073-3 | EDTA (25mM) | 0.2ml |
| — | 说明书 | 1份 |

保存条件:

-20°C保存。

注意事项:

- 酶使用时宜存放在冰盒内或冰浴上, 使用完毕后宜立即放置于-20°C保存。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. RT-PCR反应前RNA样品中DNA的去除:

- 向一无RNA酶的EP管中依次加入下列试剂:

| | |
|-----------------------|------|
| RNA | 1μg |
| Reaction Buffer (10X) | 1μl |
| 补充经DEPC处理的去离子水 | 至9μl |
| DNase I (1U/μl) | 1μl |

注意: 如需处理大量的RNA样品, 可以按照比例放大上述反应体系。如果能在上述反应体系中加入适量 Ribonuclease inhibitor 以防止RNA降解则更佳。

- 37°C 孵育 30 分钟。
- 向上述反应体系中加入 1μl 25mM EDTA, 65°C 孵育 10 分钟以失活 DNase I。注意: 在没有螯合剂如 EDTA 等存在情

况下加热，RNA 可被水解。

d. 上述加热处理过的RNA样品即可直接用于处理好的RNA可用作RT-PCR反应的模板。

2. 体外RNA转录后模板DNA的去除:

a. 在每含有0.5 μ g模板DNA的转录反应体系中加入1U DNase I。注意: 在某些情况下, 模板DNA完全消化所需的DNase I的量需通过实验进行摸索。

b. 37 $^{\circ}$ C 孵育15分钟。

c. 酚/氯仿抽提失活DNase I。

3. 缺口平移进行DNA标记:

a. 参考如下表格设置反应体系:

| | |
|--|-------------------------------|
| Reaction Buffer (10X) for DNA Polymerase I | 2.5 μ l |
| 3 dNTP Mixture (1mM each, without the labeled dNTP) * | 1.25 μ l |
| [α - 32 P]-dNTP, ~110TBq/mmol (3000Ci/mmol) | 1.85-3.7MBq (50-100 μ Ci) |
| DNase I (freshly diluted to 0.002U/ μ l)** | 1 μ l |
| DNA Polymerase I, E.coli | 0.5-1.5 μ l (5-15U) |
| Template DNA | 0.25 μ g |
| 补充无核酸酶去离子水 | 至25 μ l |

*3 dNTP Mixture (1mM each, without the labeled dNTP): 分别取除已经标记的 dNTP 外的 3 种 dNTP(100mM) 各 1 μ l 加入到 97 μ l 的无核酸酶的去离子水中混匀即可。例如标记的为 dATP, 则需混合 dTTP、dCTP 和 dGTP 三种 dNTP 至每种的最最终浓度为 1mM。配制好的 dNTP 可存放于-20 $^{\circ}$ C 以备后续使用。

**DNase I 可以用 1X Reaction Buffer for DNA Polymerase I 进行稀释。

Reaction Buffer (10X) for DNA Polymerase I: 500mM Tris-HCl (pH7.5 at 25 $^{\circ}$ C), 100mM MgCl₂, 10mM DTT。

b. 立即 15 $^{\circ}$ C 孵育 15~60 分钟。

c. 上述反应体系中加入 1 μ l of 0.5M EDTA(pH 8.0)终止反应。

d. 从中取出少量例如 1 μ l 检测标记效率。通常标记效率至少可以达到 10⁸cpm/ μ g DNA。

e. 可用Sephadex G-50或Bio-Gel P-60去除[α - 32 P]-dNTP, 以纯化获得标记的DNA。

4. 其它用途可以参考上述用途进行。

使用本产品的文献:

1. Zhu W, Xie K, Xu Y, Wang L, Chen K, Zhang L, Fang J. CRISPR/Cas9 produces anti-hepatitis B virus effect in hepatoma cells and transgenic mouse. *Virus Res.* 2016 Jun 2;217:125-32.
2. Zhu G, Chen J, Tian J, Ge L, Xing A, Tang G. Expression of NLRC4 in children with septicaemia and mechanisms of NLRC4 in in vitro cytokine secretion. *Mol Med Rep.* 2016 Jul;14(1):509-14.
3. Sun XY, Duan ZJ, Liu Z, Tang SX, Li Y, He SC, Wang QM, Chang QY. Inhibition of P-glycoprotein, multidrug resistance-associated protein 2 and cytochrome P450 3A4 improves the oral absorption of octreotide in rats with portal hypertension. *Exp Ther Med.* 2016 Dec;12(6):3716-3722.
4. Wang H, Wu J. 17 β -estradiol suppresses hyperoxia-induced apoptosis of oligodendrocytes through paired-immunoglobulin-like receptor B. *Mol Med Rep.* 2016 Mar;13(3):2892-8.
5. Hui H, Rao W, Zhang L, Xie Z, Peng C, Su N, Wang K, Wang L, Luo P, Hao YL, Zhang S, Fei Z. Inhibition of Na(+)-K(+)-2Cl(-) Cotransporter-1 attenuates traumatic brain injury-induced neuronal apoptosis via regulation of Erk signaling. *Neurochem Int.* 2016 Mar;94:23-31.
6. Yang S, Li SS, Yang XM, Yin DH, Wang L. Embelin prevents LMP1-induced TRAIL resistance via inhibition of XIAP in nasopharyngeal carcinoma cells. *Oncol Lett.* 2016 Jun;11(6):4167-4176.
7. Feng Q, Hu ZY, Liu XQ, Zhang X, Lan X, Geng YQ, Chen XM, He JL, Wang YX, Ding YB. Stomatin-like protein 2 is involved in endometrial stromal cell proliferation and differentiation during decidualization in mice and humans. *Reprod Biomed Online.* 2016 Nov 23. pii: S1472-6483(16)30614-9.
8. Qiao C, Liu J, Yang J, Li Y, Weng J, Shao Y, Zhang X. Enhanced non-inflammasome mediated immune responses by mannoseylated zwitterionic-based cationic liposomes for HIV DNA vaccines. *Biomaterials.* 2016 Apr;85:1-17.
9. Liu X, Tian F, Wang S, Wang F, Xiong L. Astrocyte Autophagy Flux Protects Neurons Against Oxygen-Glucose Deprivation and Ischemic/Reperfusion Injury. *Rejuv Res.* 2017 Dec 22. doi: 10.1089/rej.2017.1999. [Epub ahead of print]
10. Li J, Mao Q, He J, She H, Zhang Z, Yin C. Human umbilical cord mesenchymal stem cells improve the reserve function of perimenopausal ovary via a paracrine mechanism. *Stem Cell Res Ther.* 2017 Mar 9;8(1):55.
11. Zhang Q, Cheng G, Qiu H, Wang Y, Wang J, Xu H, Zhang T, Liu L, Tao Y, Ren Z. Expression of prostate stem cell antigen is downregulated during flavonoid-induced cytotoxicity in prostate cancer cells. *Exp Ther Med.* 2017 Aug;14(2):1795-1801.
12. Peng C, Rao W, Zhang L, Gao F, Hui H, Wang K, Dai S, Yang Y, Luo P, Ma Y, Ma W, Yu X, Fei Z. Mitofusin 2 Exerts a Protective Role in Ischemia Reperfusion Injury Through Increasing Autophagy. *Cell Physiol Biochem.* 2018;46(6):2311-2324.
13. Pan Z, Fan Z, Ma J, Liu H, Shen L, He B, Zhang M. Profiling and functional characterization of circulation lncRNAs that are associated with coronary atherosclerotic plaque stability. *Am J Transl Res.* 2019 Jun 15;11(6):3801-3815. eCollection 2019.
14. Zhong J, Xu W. Characterization of DNA hydroxymethylation in the hypothalamus of elderly mice with post-operative cognitive dysfunction. *Exp Ther Med.* 2019 Nov;18(5):4002-4010.
15. Zhao RZ, Jiang S, Ru NY, Jiao B, Yu ZB. Comparison of hypoxic effects induced by chemical and physical hypoxia on cardiomyocytes. *Can J Physiol Pharmacol.* 2019 Oct;97(10):980-988.
16. Zhong J, Xu W. Characterization of DNA hydroxymethylation in the hypothalamus of elderly mice with post-operative cognitive dysfunction. *Exp Ther Med.* 2019 Nov;18(5):4002-4010.
17. Jiang Zhong, Wei Xu. Characterization of DNA Hydroxymethylation in the Hypothalamus of Elderly Mice With Post-Operative Cognitive Dysfunction. *Exp Ther Med.* 2019 Nov;18(5):4002-4010.

18. Jin Liu, Yong-Ming Zhu, Yi Guo, Liang Lin, Zhan-Xiang Wang, Feng Gu, Xin-Yi Dong, Ming Zhou, Yi-Fan Wang, Hui-Ling Zhang. Inhibition of GSK3 β and RIP1K Attenuates Glial Scar Formation Induced by Ischemic Stroke via Reduction of Inflammatory Cytokine Production Front Pharmacol. 2020 Jun 12;11:812.;doi: 10.3389/fphar.2020.00812
19. Wen Li, Zhuo Luo, Chang-Yu Yan, Xiao-Hua Wang, Zheng-Jie He, Shu-Hua Ouyang, Chang Yan, Li-Fang Liu, Qing-Qing Zhou, Han-Lu Mu, Hai-Biao Gong, Wen-Jun Duan, Lei Liang, Hiroshi Kurihara, Du Feng, Yi-Fang Li, Rong-Rong He. Autophagic degradation of PML promotes susceptibility to HSV-1 by stress-induced corticosterone Theranostics. 2020 Jul 11;10(20):9032-9049.;doi: 10.7150/thno.46921
20. Jian Tan, Zhiguo Wu, Jun Liu, Wenting Zhang, Wanqiu Yuan, Hong Peng. MicroRNA-203-mediated inhibition of doublecortin underpins cardioprotection conferred by sevoflurane in rats after myocardial ischaemia-reperfusion injury J Cell Mol Med. 2020 Sep;24(17):9825-9838.;doi: 10.1111/jcmm.15566.

Version 2021.09.01