



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
D7076	DNase I	1000U

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
D7076-1	DNase I, RNase-free (50U/μl)	1000U
D7076-2	Reaction Buffer (10X)	1ml
D7076-3	EDTA (25mM)	1ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存。

注意事项:

- 如需对酶进行稀释, 可以用酶储存液(50mM Tris-acetate (pH 7.5), 10mM CaCl₂, 50% (v/v) glycerol)进行稀释。
- 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:

a. 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: 如需处理较大的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。

b. 37°C 孵育 30 分钟。

- c. 向上述反应体系中加入 1 μ l 25mM EDTA, 65 $^{\circ}$ C 孵育 10 分钟以失活 DNase I。注意: 在没有整合剂如 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 -32P]-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 -32P]-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:

- 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.
- Zhu G, Chen J, Tian J, Ge L, Xing A, Tang G. Expression of NLRC4 in children with septicemia and mechanisms of NLRC4 in vitro cytokine secretion. *Mol Med Rep.* 2016 Jul;14(1):509-14.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Liu X, Tian F, Wang S, Wang F, Xiong L. Astrocyte Autophagy Flux Protects Neurons Against Oxygen-Glucose Deprivation and Ischemic/Reperfusion Injury. *Rejuven Res.* 2017 Dec 22. doi: 10.1089/rej.2017.1999. [Epub ahead of print]
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.; doi: 10.3892/etm.2019.8056
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