天净沙系列

CAT#:90903-1000
低温运输，-20℃保存

TIANDZ

无 RNase 的 DNase
RNase-free DNase

使用手册 V1.3

北京天恩泽基因科技有限公司
北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506
网址：www.tiandz.com；电话：400-6765278；电邮：order@tiandz.com

产品及特点	本产品是从牛胰 DNase 中精制的无 RNase 污染的 DNase，专门用于降解 RNA 样品中的 DNA 污染，具有下列特点： 1. 高效，能使总 RNA 中的基因组 DNA 污染降低到电泳检测不到的水平。 2. 同时降解单链 DNA 和双链 DNA。 3. 不含 RNase，可以保证 RNA 分子完整性不受任何影响。 4. 反应条件经过优化，可以用于快速降解硅胶膜上吸附的 DNA，也可以用于快速降解液体反应体系中的 DNA。 5. 可以用于总 RNA 提取和体外转录中去除 DNA。也可用于切口平移(Nick Translation）和 DNase 印迹法研究 DNA-蛋白质相互作用。
规格及成分	见下表

成 份	编 号	塑料袋包装
RNase-free DNase（1U/uL)	90903a	500 uL×2
10×DNase Buffer	90903b	1000 uL
50 mM EDTA 溶液	90903c	1000 uL
使用手册	90903sc	1 份

运输及保存	低温运输，-20℃保存，有效期一年。
自备试剂	超纯水。
使用方法	见下文

一、去除 RNA 样品中污染的基因组 DNA（仅供参考，本试剂盒不含 RNase-free DNase 以外的所需试剂）

1. 在一无 RNA 酶的离心管中配制 10 μL 的反应液：

成份	用量
RNA 样品	1 ug
10×DNase Buffer	1 uL
RNase-free DNase（1 U/uL)	1 uL
自备的 RNase inhibitor（40 U/uL)	0.5-1 uL (可不加)
补超纯水到	10 uL

2. 混匀，短暂离心，37℃放置 30 分钟；
3. 加入 2 uL 50 mM EDTA 溶液，65℃放置 15 分钟。此步可以灭活 DNase。RNA 在加热时容易水解，也可以使用酚/氯仿抽提去除 DNase，然后再乙醇沉淀 RNA。如果 RNA 在 20ug 以上，也可以使用本公司的 RNAclean 试剂盒进行柱式纯化，回收 RNA。

4．电泳检测是否去除了基因组 DNA，然后进行后续实验。

二、除去硅胶膜离心吸附柱上的 DNA（仅供参考，本试剂盒不含 RNase-free DNase 以外的所需试剂）

1．在柱式法提取过程中，完成洗涤步骤。

2．配制 50 uL DNase 工作液。

成份	用量
10×DNase Buffer	5 uL
RNase-free DNase（1U/uL）	10 uL
自备 RNase inhibitor（40U/uL）	0.5-1 uL（也可不加）
加超纯水到	50 uL

3．加在离心吸附柱中间，室温放置 5-30 分钟。

4．加入 0.5 mL 自备洗柱液洗涤两次。

5．用 RNA 洗脱液洗脱即得无 DNA 的 RNA 样品。

三、除去 RNA 体外转录反应中的 DNA 模板（仅供参考，本试剂盒不含 RNase-free DNase 以外的所需试剂）

1．按 2 U RNase-free DNase/ug DNA 模板的比例在 RNA 体外转录反应中加入 RNase-free DNase。注意：酶的最佳用量也许需要优化。

2．37℃放置 15 分钟。

3．加入 2 uL 50 mM EDTA 溶液，65℃放置 15 分钟；此步可以灭活 DNase。RNA 在加热时容易水解，也可以使用酚/氯仿抽提去除 DNase，然后再乙醇沉淀 RNA。如果 RNA 在 20 ug 以上，也可以使用本公司的 RNAclean 试剂盒（需另购）进行柱式纯化，回收 RNA。

四、用于切口平移法（Nick Translation）DNA 探针标记（仅供参考，本试剂盒不含 RNase-free DNase 以外的所需试剂）

1．按下表设置切口平移标记反应：

成份	用量
10×DNA 聚合酶 I 缓冲液	2.5 uL
3 dNTP mixture，1 mM each	1.25 uL

标记核苷酸：非标记核苷酸混合（3：7，1mM）	1 uL
RNase-free DNase（0.002 U/uL，见注）	1 uL
DNA 聚合酶 I（10U/uL）	0.5-1.5 uL
模板 DNA	0.25 ug
加水到	25 uL

注：稀释 RNase-free DNase 的缓冲液为 1×DNA 聚合酶 I 缓冲液：50 mM

2. 15℃放置 15-60 分钟。
3. 加入 10 uL 50 mM EDTA 溶液。
4. 65℃放置 15 分钟灭活酶。
5. 所得探针可以纯化后使用，也可以直接使用。

关联产品

T7 体外转录试剂盒(CAT#:91106)，柱式 RNA 纯化试剂盒(CAT#:80204)。