

版本号: DP121221

# RNase-Free DNase I

目录号: RT411

## 产品内容

产品组成	RT411 (50 preps)
RNase-Free DNase I (干粉)	1500 Kunitz units
Buffer RDD	4 ml
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O	1 ml

## 储存条件

RNase-Free DNase I 干粉可在室温 (15-25°C) 运输, 在 2-8°C 可储存9个月以上。

---

## 注意事项

1. 本产品为RNase-Free的DNase I，呈干粉状；在某些情况下，盛有DNase I干粉的瓶子看起来是空的，这是由于干粉形成一层薄膜，粘在瓶壁上的缘故。为了避免在溶解DNase I的过程中造成损失，请不要打开瓶盖。使用RNase-Free注射器将RNase-Free ddH<sub>2</sub>O注射进瓶中，颠倒混匀使DNase I完全溶解后，使用RNase-Free注射器吸出溶液（RNase-Free注射器需自备，也可将RNase-Free ddH<sub>2</sub>O直接加入瓶中，此时请小心打开瓶盖，防止DNase I损失）。
  2. 溶解后的DNase I溶液中可能会出现不溶物，这在DNase I干粉的生产制作中是正常的现象，对DNase I的活性和生化指标没有影响。
  3. 在配制DNase I溶液的时候请不要涡旋振荡，应轻柔的颠倒混匀。
  4. 本品能有效去除DNA，并可与TIANGEN公司RNAprep Pure系列试剂盒配套使用。
  5. 本品既可用于离心柱吸附法提纯RNA（例如RNAprep Pure系列）中DNA的消化，也可直接用于RNA溶液中DNA的消化。
-

---

## 操作步骤

### 一、与TIANGEN公司RNAprep Pure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（以下操作步骤是与RNAprep Pure系列试剂盒配套使用的，其中的缓冲液RW1为RNAprep Pure系列试剂盒提供）。

**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储存液的配制：将DNase I干粉（1500 Kunitz单位）溶解在550  $\mu$ l RNase-Free ddH<sub>2</sub>O中，轻柔混匀，分装后-20 $^{\circ}$ C贮存（可保存9个月），每次按照实验需求取出。请注意将融化的DNase I的储存液置于4 $^{\circ}$ C贮存（可保存6周），请勿再次冻存。
2. DNase I工作液的配制：每个反应取10  $\mu$ l DNase I 储存液，加入70  $\mu$ l Buffer RDD，轻柔混匀。
3. 接RNAprep Pure系列试剂盒如下的操作步骤，向已经结合RNA的吸附柱中加入350  $\mu$ l 缓冲液RW1，12,000 rpm ( $\sim$ 13,400  $\times$  g)离心30-60 sec，弃废液。
4. 向吸附柱中央加入第2步配好的80  $\mu$ l DNase I 工作液，室温放置15 min。
5. 接RNAprep Pure系列试剂盒如下步骤，向吸附柱中加入350  $\mu$ l 缓冲液RW1，12,000 rpm ( $\sim$ 13,400  $\times$  g)离心30-60 sec，弃废液。继续按照RNAprep Pure系列试剂盒操作步骤，直至最终洗脱RNA分子。

**注意：后续实验请按照RNAprep Pure系列说明书继续进行。**

---

---

## 二、直接处理RNA溶液

1. DNase I储存液的配制：将DNase I干粉（1500 Kunitz单位）溶解在550  $\mu\text{l}$  RNase-Free ddH<sub>2</sub>O中，轻柔混匀，分装后-20 $^{\circ}\text{C}$  贮存（可保存9个月），每次按照实验需求取出。请注意将融化的DNase I的储存液置于4 $^{\circ}\text{C}$  储存（可保存6周），请勿再次冻存。
2. 在RNase-Free的离心管中建立如下反应体系：
  - ≤87.5  $\mu\text{l}$  RNA溶液
  - 10  $\mu\text{l}$  Buffer RDD
  - 2.5  $\mu\text{l}$  DNase I储存液用RNase-Free ddH<sub>2</sub>O补充体系至100  $\mu\text{l}$ 。
3. 20-25 $^{\circ}\text{C}$  孵育10 min。
4. 纯化RNA，可使用TIANGEN提供的RNAClean Kit（DP412）。

**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  $\mu\text{l}$  Stop Solution (20 mM EDTA, pH8.0)，65 $^{\circ}\text{C}$  孵育10 min失活DNase I。

---