

dsDNase

REF: EG20206S

储运条件

-20℃

产品组成

组分	规格
dsDNase	50 μ l
10 $\times$ dsDNase Buffer	200 μ l

产品简介

dsDNase 是一种核酸内切酶，能够裂解 DNA 中的磷酸二酯键，生成带有 5'-磷酸和 3'-羟基末端的寡核苷酸。dsDNase 能够特异性的消化双链 DNA（double-stranded DNA, dsDNA）而不会消化单链 DNA、引物、探针和 RNA。dsDNase 具有热敏感性，可在 55℃条件下快速失活。dsDNase 主要用于反转录实验前快速去除 RNA 样本中的基因组 DNA 污染，与传统的使用 DNase I 去除基因组 DNA 污染的方法相比，无需额外加入 EDTA 失活，可减少 RNA 的损伤，同时节省实验时间，保证 RNA 水平定量的准确性。

活性定义

根据 Kunitz 实验方法，在 25℃ pH 5.0 的条件下，以过量的大分子 DNA 为底物，在 260 nm 波长处每分钟能引起吸光度增加 0.001 的酶量定义为 1 个活性单位（U）。

抑制与失活

抑制条件：金属离子、EDTA、SDS、DTT、 β -巯基乙醇、高盐离子浓度等会抑制 dsDNase 的活性；

失活条件：55℃温育 5 min。

质量控制

蛋白质纯度

通过 SDS-PAGE 并考马斯亮蓝染色，该酶纯度 $\geq 90\%$ 。

RNA 酶活性检测

将酶液与 RNA 底物在 37℃温育 1 h，通过凝胶电泳检测没有发现 RNA 底物降解。

功能检测

该产品被用于测试去除来自 RNA 样本中的基因组 DNA 并进行了 RT-qPCR 扩增，发现去除率 $\geq 99.9\%$ 。RNA 数量不受 dsDNase 处理的影响。

使用方法

1. 于冰上配制如下反应体系：

试剂	使用量
dsDNase	1 μ l
10 $\times$ dsDNase Buffer	1 μ l
模板 RNA	x μ l
总 RNA	1 pg~5 μ g/10 μ l
mRNA	0.1 pg~500 ng/10 μ l
特异性 RNA	0.01 ng~500 ng/10 μ l
Nuclease-Free Water	To 10 μ l

2. 轻轻吹打混匀反应体系后，将以上混合液在 37℃温育 2~5 min；

3. 65℃热失活 2 min，迅速将获得的 RNA 置于冰上，用于后续实验。

长期保存请置于 -80℃，避免反复冻融。

注意事项

1. 若 RNA 样本下游用于 RT-PCR，且目的基因长度 ≥ 3 kb，失活步骤前需添加终浓度为 10 mM 的 DTT；

2. 为避免 RNA 降解，可在反应体系中加入适量的 RNase Inhibitor。

常见问题

问题描述	原因	解决方案
RT-qPCR 实验 NTC 对照有扩增	gDNA 污染较为严重，反应时间不足	延长孵育时间至 5 min
	RNA 模板中存在较高浓度抑制剂影响 dsDNase 酶活	使用 75% 无水乙醇洗涤 RNA 模板，并溶解于无核酸酶水中