

DNase I-ST, GMP Grade

REF: GMP105S

储运条件

-20 ± 5°C保存, 有效期 24 个月。运输条件: ≤ 0°C。

产品组成

组分	规格
DNase I-ST, GMP Grade (2 U/μl)	1 ml
10× DNase I-ST Buffer, GMP Grade	2×1.25 ml

产品简介

本产品是重组表达来源的 DNase I, 与野生型相比, 本产品经过了蛋白质工程改造, 获得了远优于野生型的耐盐性, 在 300 mM 一价盐的溶液中仍能完全消化 DNA。本品不含 RNase 污染。

本品采用符合 GMP 规范的生产与质量管理体系, 保证生产过程以及原辅料全程可追溯。整个生产过程不使用抗生素和任何动物来源的原料及辅料, 对宿主蛋白、RNase 等工艺相关杂质, 以及微生物限度、细菌内毒素等进行严格控制。本品满足疫苗与药物生产等领域对原辅料的要求。

活性定义

1 活性单位 (U) 是指在 37°C 10 min 能够完全降解 1 μg pUC19 质粒 DNA 所需要的酶量。

适用范围

1. 体外转录: 使用 RNA 聚合酶进行体外转录后, 用于模板 DNA 的去除。
2. 去除 RNA 样品中的基因组 DNA 污染。
3. 用于 DNase I 足迹法 (DNase I footprinting) 分析 DNA- 蛋白质相互作用。
4. 与 DNA Polymerase I 配合使用, 用于缺口平移法标记 DNA。
5. 用于 DNA 随机片段文库构建。
6. 细胞凋亡 TUNEL 检测中部分剪切基因组 DNA 作为阳性对照。

质量控制

蛋白纯度

经 SDS-PAGE 凝胶电泳检测, 蛋白检测纯度不低于 95%。

RNase 活性

37°C下, 在 10 μl DNase I-ST Buffer, GMP Grade 反应体系中将 2 U DNase I-ST, GMP Grade 与 500 ng RNA 共同温育 1 h 后, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 不低于 90% 的 RNA 仍保持完整。

宿主蛋白残留

采用中国药典 2020 版四部通则 3414 酵母工程菌菌体蛋白质残留量测定法, 本品中酵母工程菌菌体蛋白质残留量低于 50 ppm。

微生物限度检测

采用中国药典 2020 版四部通则 1105 非无菌产品微生物限度检查: 微生物计数法, 本品需氧菌总数 ≤ 5 cfu/ml, 霉菌和酵母菌总数 ≤ 5 cfu/ml。

细菌内毒素残留

采用中国药典 2020 版四部通则 1143 细菌内毒素检查法第一法凝胶法, 本品中细菌内毒素残留低于 2 EU/KU。

重金属残留

采用中国药典 2020 版四部通则 0821 重金属检查法第一法, 本品重金属残留低于 10 ppm。

使用方法

1. 去除 RNA 样品中的基因组 DNA 污染

加样体系:

组分	体积
RNA	1 μg
10× DNase I-ST Buffer, GMP Grade	1 μl
DNase I-ST, GMP Grade (2 U/μl)	0.5~1 μl
Nuclease-Free Water	up to 10 μl

反应条件: 37°C 15 min。

失活条件: 柱纯化法或者苯酚 / 氯仿抽提。

2. 体外转录后模板 DNA 的去除

操作步骤如下:

- ① 每 1 μg 模板 DNA 的转录反应体系中加入 1~2 U DNase I-ST, GMP Grade, 酶的用量可以根据实际需要优化。
- ② 反应条件: 37°C 15 min。
- ③ 失活条件: 柱纯化法或者苯酚 / 氯仿抽提。

注意事项

1. 进行 RNA 样品操作时请在 RNase-free 管中进行加样。
2. 在使用本品进行 RNA 样品中 DNA 的去除实验时, 可在反应体系中添加终浓度 1 U/μl Murine RNase Inhibitor, GMP Grade (货号: GMP102S) 以保护 RNA 不被降解。
3. DNase I-ST, GMP Grade 对物理变性敏感, 混匀时请勿剧烈振荡。
4. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套及口罩进行实验操作。