DNase

FB02515005　　50 次反应

存储条件：-25°C 至 -15°C

DNase 酶是一种重组脱氧核糖核酸（DNA）酶，可快速从 RNA 样本中去除基因组 DNA 污染。DNase 酶通过特异性切割双链 DNA 的磷酸二酯键，将其降解为 2 至 8 bp 的寡核苷酸片段，末端分别携带 5'-磷酸基团和 3'-羟基团。

DNase 酶对双链 DNA 具有高度特异性，能高效、快速地去除基因组 DNA，且不会导致反应体系中 RNA 或单链 DNA（如互补 DNA、引物）的质量下降或数量减少。此外，该酶具有热不稳定性，在中等温度（55°C）下加热即可使其失活。上述特性使 DNase 酶成为在反转录反应前去除基因组 DNA 的理想选择。

试剂盒组分

试剂	体积
DNase 酶	50 µL
10X DNase 缓冲液	100 µL
无核酸酶水	1.25 mL

活性单位定义

一个单位 DNase 酶是根据 Kunitz 的测定方法，在 25°C 和 pH 5.0 条件下，以大分子量 DNA 为底物，可每分钟增加 260 nm 处的吸光度 0.001 OD。

两步法 gDNA 消化与 RT-PCR

本实验方案可在一个反应管内，通过两步操作完成基因组 DNA（gDNA）消化与 cDNA 合成。反应体系的总体积不得超过反转录（RT）反应允许的体积上限。

1. 在不含 RNase 的离心管中配制以下反应混合液：

组分	10 µL 反应体系
10X DNase 缓冲液	1 µL
DNase 酶	1 µL
模板 RNA	补齐至 8 µL
无核酸酶水	补齐至 10 µL

2. 轻轻混匀样品，随后对样品管进行离心。
3. 将样品在 37°C 孵育 2 分钟。
4. （可选步骤）如果 RNA 样品用在 ≥3 kb 片段的 RT-PCR 反应中，则需在反应体系中加入 10 mM DTT，并在 55°C 孵育 5 分钟，使酶失活。
5. 将样品管放置在冰上冷却，待样品温度降至室温后，短暂离心，随后将样品管放在冰上。
6. 直接向同一样品管中加入反转录试剂，按照第一链 cDNA 合成实验方案进行操作。

第一链 cDNA 合成产物可直接用于 PCR 和 qPCR 反应，或在 -20°C 下保存，最长保存一 周。若需长期存储，建议在 -70°C 下进行保存。避免反复冻融 cDNA。