



Общество с ограниченной ответственностью
«Биолабмикс»
ИНН 5408278957 КПП 540801001
630090, Новосибирская обл., г. Новосибирск,
ул. Инженерная, дом № 28
Tel/Fax: +7(383)363-51-91, Tel: +7(383)363-22-40
E-mail: sales@biolabmix.ru

Термолабильная ДНКаза

Кат. номер EM-100, EM-250, EM-1250

Важно!

Мы постоянно совершенствуем протокол работы с реагентом, поэтому просьба использовать протокол, идущий в комплекте с продуктом. Последняя версия протокола доступна на сайте компании ООО «Биолабмикс» (www.biolabmix.ru). Реагент предназначен только для научно-исследовательских целей. Протокол обновлён 26.04.2024.

Описание:

Фермент проявляет высокую специфическую активность в отношении двущцепочечной ДНК, при этом одноцепочечные ДНК или РНК остаются неповрежденными в стандартных условиях. При гидролизе фосфодиэфирной связи образует 5'-фосфатная и 3'-гидроксильная группы.

ДНКазу легко инактивировать при 55°C. Фермент предназначен для приложений, в которых требуется отсутствие дцДНК, для быстрой очистки образцов РНК и белков от примеси ДНК, разрушения ДНК-матрицы в реакциях транскрипции. Активность по отношению к дцДНК выше в 1000 раз и более, чем к оцДНК.

Состав

	EM-100	EM-250	EM-1250
ДНКаза, 2 ед/мкл	100 мкл 200 ед.	250 мкл 500 ед.	1250 мкл 2500 ед.
Буфер для реакции 10x	1.2 мл	5 мл	3x5 мл

Определение единицы активности

Одна единица активности фермента определена как увеличение поглощения при 260 нм на 1.0 при 37 °С, 30 мин в 50 мМ Tris-HCl буфере (pH 8.0 при 25°С), содержащим 5 мМ MgCl₂, 0.1 мг/мл БСА и 0.5 мг/мл ДНК спермы сельди в качестве субстрата.

Буфер для хранения

ДНКазы поставляется в буфере со следующим составом: 20 мМ Tris-HCl (pH 8.0), 20 мМ NaCl, 2 мМ MgCl₂, 1 мМ CaCl₂, 50 % (v/v) глицерин.

Буфер для реакции 10x

100 мМ Tris-HCl (pH 7), 30 мМ MgCl₂, 30 мМ CaCl₂

Эксплуатация

- Оптимальная конечная концентрация ДНКазы в реакционной смеси зависит от количества нуклеиновых кислот, температуры и времени инкубации.
- Для образца с высоким содержанием ДНК (1 мкг) рекомендуется использовать 1.0 ед ДНКазы при объеме реакционной смеси 20 мкл и инкубации 37 °С, 30 мин.
- При необходимости возможна инкубация при 25 °С. Например, если требуется избежать частичной дегградации РНК при нагреве.
- Важно! При удалении ДНК в образце РНК, если требуется избежать частичной дегградации РНК, инкубацию с ДНКазой можно проводить при 25 °С.
- Важно! Не рекомендуется проводить температурную инактивацию, если требуется сохранить целостность РНК. В таком случае, следует провести очистку РНК от ДНКазы осаждением в этаноле либо с помощью сорбционных методов (центрифужные колонки или магнитные частицы).

Инактивация

- Процесс инактивации ДНКазы зависит от конечной концентрации восстанавливающих агентов, например (1-10 мМ ТСЕР или DTT), времени и температура.
- Для полной инактивации 1.0 ед ДНКазы в реакционной смеси объемом 20 мкл добавить раствор 100 мМ ТСЕР или DTT до конечной концентрации 10 мМ. Инкубировать при 55°С, 15 мин.
- **Важно!** Реагенты ТСЕР или DTT могут ингибировать протекание ферментативных реакций, например, ПЦР. Степень ингибирования зависит от количества образца, конечной концентрации ТСЕР или DTT, типа и количества фермента. При использовании ТСЕР или DTT рекомендуется

оценить конечную концентрацию данных реагентов, которая не приводит к значимому ингибированию последующей ферментативной реакции.

- Фермент не нужно удалять из раствора перед последующими процедурами, т.к. термическая обработка полностью и необратимо удаляет его активность.
- **Важно!** ДНКазу нельзя инактивировать инкубацией с EDTA. EDTA связывает ионы Mg^{2+} и Ca^{2+} , которые нужны для работы фермента. Соответственно ДНКазы перестаёт работать. Но при внесении в раствор с ферментом дополнительных ионов Mg^{2+} и Ca^{2+} ДНКазы начинает работать. Такие ионы могут попасть в раствор, например, при смешивании с буфером для ПЦР.

Примеры № 1

- Для гидролиза 1 мкг ДНК, выделенной наборами реагентов компании ООО «Биолабмикс» (например, серии DU, D-Cells, D-Blood, D-Tissues, D-Plants) достаточно 1–2 ед ДНКазы при объеме реакционной смеси 20–30 мкл.
- **Важно!** Избыток ДНКазы не мешает проведению реакции.

Для примера рассмотрим раствор ДНК с концентрацией 50 нг/мкл.

Обработка образца ДНК ДНКазой

Компонент	Объем	Начальная концентрация	Количество
Образец ДНК	20 мкл	50 нг/мкл	1 мкг
ДНКаза	0.5–1 мкл	2 ед./мкл	1–2 ед.
10x буфер для реакции	2.5 мкл	-	-
Вода (I тип)	1.5 мкл	-	-
Итоговый объем	25 мкл		

Инкубировать при 37 °С, 30 мин.

Инактивация ДНКазы

Добавить 2.5 мкл раствора 100 мМ ТСЕР или 100 мМ DTT до конечной концентрации ~ 10 мМ.

Инкубировать при 55 °С, 15 мин.

Примечание: растворы 100 мМ ТСЕР или DTT не входят в комплектацию поставки реагента.

Примеры № 2

- Для гидролиза примеси ДНК, которая содержится при выделении 1 мкг РНК наборами реагентов компании ООО «Биолабмикс» (например, серии LR, LRP, LRU, RUplus, R-Plants), достаточно 0.1–0.2 ед ДНКазы при объеме реакционной смеси 20–30 мкл.
- Для удобства работы с ДНКазой в количестве 0.1–0.2 ед разбавить необходимый для проведения реакции объем ДНКазы в 10 раз водой тип I до концентрации 0.2 ед/мкл.

Важно! Избыток ДНКазы не мешает проведению реакции.

Примечание: не хранить разбавленный раствор ДНКазы.

Для примера рассмотрим раствор РНК с концентрацией 100 нг/мкл.

Обработка образца РНК ДНКазой

Компонент	Объем	Начальная концентрация	Количество
Образец РНК	10 мкл	100 нг/мкл	1 мкг
ДНКаза	0.5–1 мкл	0.2 ед./мкл (разбавленная)	0.1–0.2 ед.
10x буфер для реакции	2 мкл	-	-
Вода (I тип)	7 мкл	-	-
Итоговый объем	20 мкл		

Инкубировать при 37 °С, 30 мин.

Примечание: при нагреве возможна частичная деградация РНК. Инкубацию возможно провести при 25 °С.

Инактивация ДНКазы

Добавить 2.5 мкл раствора 10 мМ ТСЕР или 10 мМ DTT до конечной концентрации ~ 1 мМ.

Инкубировать при 55 °С, 15 мин.

Примечание: растворы 10, 100 мМ ТСЕР или DTT не входят в комплектацию поставки реагента.

Примечание: при нагреве возможна частичная деградация РНК. Если важно сохранить целостность РНК, то не рекомендуется проводить инактивацию ДНКазы. В таком случае провести очистку РНК от ДНКазы осаждением в этаноле

либо с помощью сорбционных методов (центрифужные колонки или магнитные частицы).

Примечание: В каталоге ООО «Биолабмикс» представлен Набор для выделения ДНК и РНК из реакционных смесей (Кат. № DR-10, DR-50, DR-250), который может быть использован для очистки РНК от ДНКазы на центрифужных колонках. Объём РНК после выделения от 60 мкл. Выход РНК 70-80%.

Условия хранения:

Хранить при температуре -20°C . Срок годности см. на упаковке.

Для долгосрочного хранения хранить при -80°C . Фермент не теряет свою активность после не менее 15 циклов заморозки и оттаивания.

Условия транспортировки:

Транспортировку набора, производить при температуре от $+15$ до $+25^{\circ}\text{C}$. Допускается транспортирование при температуре не выше $+25^{\circ}\text{C}$ в течение 14 суток.

Продукция компании Биолабмикс

Наборы для
выделения
ДНК/РНК



Наборы и смеси
для ПЦР



ОТ и ОТ-ПЦР



Изотермическая
амплификация



ДНК-маркеры



Ферменты



Олиго-
нуклеотиды



Платформа
для синтеза
мРНК



Маркеры
молекулярной
массы белков



Host cell
DNA detection



Контрактное
производство

Собственные
разработки

sales@biolabmix.ru
8 800 600 88 76

www.biolabmix.ru



9001:2015
13485:2016



ПОДПИСЫВАЙТЕСЬ
НА НАШУ ГРУППУ В VK