



Deoxyribonuclease (RT Grade) for Heat Stop

I. 製品説明

本品は、Deoxyribonuclease のグリセロール溶液であり、RT-PCR 用の鑄型 RNA 調製専用です。DNase の失活に熱処理法を採用しており、従来のフェノール/クロロホルム処理法よりも簡単なプロトコルで、短時間に RT-PCR 用の鑄型 RNA を調製することができます。本品は純度試験にて、RNase 活性が検出されないことを確認しています。

II. 保存

-20°C

III. 活性定義

1 unit は、1 µg の DNA を 37°C、10 分間で完全に分解する酵素活性とする。

IV. 起源

Bovine Pancreas

V. 形状

●Deoxyribonuclease (RT Grade)

10 mM	HEPES (pH 7.5)
10 mM	CaCl ₂
10 mM	MgCl ₂
0.2 mg/ml	BSA
50%	Glycerol

●10 x DNase (RT Grade) Buffer II

400 mM	Tris-HCl (pH 7.9)
20 mM	MgCl ₂
3 mM	CaCl ₂

●Stop Solution (RT Grade)

10 mM	EGTA (pH 8.0)
-------	---------------

VI. 添付品

- 10 x DNase (RT Grade) Buffer II
- Stop Solution (RT Grade)

添付反応バッファーは、酵素反応条件の 10 倍濃度です。

VII. 純度

本酵素 5 units と 15 µg の基質 RNA を 100 µl の反応溶液中で 37°C、60 分間反応させても、ホルムアミド変性ゲル電気泳動のパターンに変化は認められない。

VIII. 使用例

Total RNA	10 µg
10 x DNase (RT Grade) Buffer II	5 µl
Deoxyribonuclease (RT Grade)	1 µl
d.d. H ₂ O (RNase free)	

Total	50 µl ¹⁾
	↓
	37°C 15 分間 ²⁾
	↓
	Stop Solution 5 µl 添加
	↓
	70°C 10 分間 ³⁾
	↓
	RT-PCR ⁴⁾

- 1) 50 µl 以外の反応系で行う場合、Deoxyribonuclease (RT Grade) : 10 x DNase (RT-Grade) Buffer II : Stop Solution は必ず 1 : 5 : 5 の量比で使用してください。他の比率では Stop Solution の効果が十分に得られない場合があります。
- 2) 15 分間以上は反応させないでください。
- 3) RNA は高温下では不安定です。熱処理は 70°C で行ってください。
- 4) 逆転写反応の後には 95°C、5 分間の熱処理を行い、逆転写酵素の反応停止と失活を行ってください。

IX. 注意

- 本品は、RT-PCR 用の RNA 調製専用 DNase です。
- 他の目的での使用はできるだけ避けてください。
- DNase は上記プロトコルでは完全に失活しませんが、RT-PCR において特に問題はありません。(RT-PCR の結果は、DNase を完全に失活させた場合とほとんど変わりありません。) DNase の完全な失活と除去を行いたい場合は、37°C 15 分間のインキュベーションの後、フェノール/クロロホルム処理とエタノール沈殿による回収を行ってください。(この場合、Stop Solution の添加及び 70°C 10 分間のインキュベーションは必要ありません。)
- DNase 処理した RNA を電気泳動する場合、フェノール/クロロホルム処理とエタノール沈殿による回収を行ってください。反応バッファーや Stop Solution の影響により移動度が変わることがあります。

本品は、試薬(試験研究用)として販売しているものです。
医薬品の用途には使用しないでください。