

DNáza I, bez RNáz

(katalogové číslo D061)

Popis

Řada metod molekulární biologie vyžaduje štěpení DNA pomocí deoxyribonukleázy I (DNáza I). Tento enzym štěpí jednovláčkové a dvouvláčkové řetězce DNA za vzniku mono- a oligonukleotidů. DNáza I v přítomnosti Mg^{2+} hydrolyzuje každý z řetězců dvouvláčkové DNA nezávisle a náhodně. Jako příklad použití lze uvést odstranění stopových množství DNA z preparátů RNA (procedury RT-PCR a tzv. Differential Display Library), DNázový "footprinting", mapování oblastí citlivých k DNáze, konstrukce plasmidů, radioaktivní značení pomocí nick translace. Běžně dodávané komerční preparáty DNázy, i ty u kterých je vyznačeno, že neobsahují RNázovou aktivitu, jsou pro tyto experimenty nepoužitelné, neboť stopová množství RNázy se negativně projeví při jejich aplikaci. Preparát DNáza I, bez RNáz byl připraven z bovinního pankreatu tak, že neobsahuje ani stopová množství RNázy a lze jej bezprostředně využít pro molekulárně-biologické techniky.

Technické údaje

Koncentrace

- DNáza I, bez RNáz je dodávána v koncentraci 10 000 U/ml.

Balení

- 1 zkumavka DNázy I, bez RNáz, 5 000 U/0,5 ml.
- 1 zkumavka 5x koncentrovaného reakčního pufru, 1 ml.

Definice jednotky

- Jedna jednotka je definována jako množství enzymu, které kompletně degraduje 1 μ g DNA za 10 min při 37°C ve 20 μ l reakčního pufru o složení: 20 mM Tris-HCl, pH 7,6, 20 mM NaCl, 12 mM $MgCl_2$ a 4 mM $CaCl_2$.

Skladování

- Skladovat při teplotě $-20 \pm 5^\circ C$. Materiál snáší opakované rozmrazování.

Složení

- Reakční pufr (5x): 100 mM Tris-HCl (pH 7,6 při 20°C), 100 mM NaCl, 60 mM $MgCl_2$, 20 mM $CaCl_2$ (označen 5x DNáza I react pufr).
- Skladovací pufr: 10 mM Tris-HCl (pH 7,6 při 20°C), 10 mM NaCl, 6 mM $MgCl_2$, 2 mM $CaCl_2$, 50% (vol/vol) glycerol.

Kontrola kvality

- Za podmínek kdy DNáza I kompletně degraduje DNA, nemá tento enzym efekt na průběh RT-PCR a na elektroforetickou intaktnost RNA.

| Kat. č. | Název výrobku a specifikace | Množství |
|---------|-----------------------------|----------------|
| D 061 | DNáza I, bez RNáz | 5 000 U/0,5 ml |

