

PRODUCT INFORMATION

dsDNase, heat labile, solution

Cat. No.: 18545

PRODUKTBESCHREIBUNG

Allgemein In *Pichia pastoris* rekombinant hergestellte Endonuklease, die Phosphodiesterbindungen in DNA spaltet, um Oligonukleotide mit 5'-Phosphat- und 3'-Hydroxyltermini zu erhalten. Die hochspezifische Aktivität gegenüber doppelsträngiger DNA stellt sicher, dass RNA und einzelsträngige DNA, wie z.B. cDNA und Primer, nicht gespalten werden. Das Enzym ist durch moderate Hitzebehandlung leicht zu inaktivieren.

Applikation

- Entfernung genomischer DNA aus RNA-Proben vor der cDNA-Erststrang-Synthese, RT-PCR und RT-qPCR
- Entfernung von DNA-Kontaminationen aus PCR- und qPCR-Mastermixen
- Reduzierung des Hintergrunds durch Entfernung von genomischer DNA vor Next Generation Sequencing

Eigenschaften

- Geliefert in 20 mM Tris-HCl pH 7,5, 2 mM MgCl₂, 10 mM NaCl, 0,01 % (v/v) Tween 20, 50 % (v/v) Glycerin
- 5000-fach höhere Aktivität gegenüber dsDNA als gegenüber ssDNA
- Sehr hohe spezifische Aktivität: ca. 200 000 Kunitz-Einheiten/mg
- Irreversibel inaktiviert durch Hitzebehandlung für 5 - 15 min bei 55 °C, 1 mM DTT, pH ≥ 8

Lagerung Lagerung bei -20 °C. Das Enzym toleriert auch mehrere Gefrier-Auftau-Zyklen.

Aktivität

- Hoch aktiv in einem Temperaturbereich von 20 °C - 40 °C
- Benötigt mindestens 2,5 mM Mg²⁺ für die Aktivität, Optimum-pH: 7,5

Reaktions-Bedingungen **Empfohlenes Protokoll zur Entfernung von gDNA aus RNA-Proben:**

- Zugabe von 0,1 U dsDNase/µl RNA-Probe (in Wasser verdünnt) in Gegenwart von 3 mM MgCl₂ und 1 mM DTT
- Inkubation bei Raumtemperatur für 15 min
- Inaktivierung der dsDNase bei 55 °C für 10 min
- Durchführung der RT im selben Röhrchen oder in zwei Schritten

Empfohlenes Protokoll zur Dekontamination von Mastermixen:

- Mischen von Mastermix, Taq-Polymerase, Primer und Sonde, möglichst Mg²⁺ - Gehalt > 3 mM und KCl-Gehalt < 50 mM halten
- 1 U dsDNase/25 µl PCR-Reaktion zugeben
- Inkubation bei 37° C für 10 min
- Inaktivierung der DNase durch Erhitzen für 10 min bei 55 °C
- Abkühlen und Template-DNA zugeben
- Führen Sie Ihre PCR durch

Einheitsdefinition: Eine Einheit ist definiert als ein Anstieg der Absorption bei 260 nm von 0,001 pro Minute, unter Verwendung von 50 mg/ml DNA mit hohem MW in 50 mM Na-Acetat pH 5,0 und 5 mM MgCl₂.

Vers. 02/21