

# ДНКаза E

Кат. ## EK007S, EK007M

Версия 3 от 17 марта 2025 г.

ДНКаза E — термостойкая эндонуклеаза, разрушающая ДНК до одноцепочечных олигонуклеотидов. Ферментативная активность проявляется в присутствии бивалентных катионов.

**Только для использования в научно-исследовательских целях.**

## Состав

Компонент	EK007S	EK007M
ДНКаза E (лиофилизированная)	100 е.а.*	500 е.а.*
Буфер для хранения ДНКазы	100 мкл	500 мкл
10X Реакционный буфер для ДНКазы	100 мкл	500 мкл
10X Стоп-буфер	500 мкл	3 мл (2 x 1.5 мл)
Соосадитель	100 мкл	500 мкл
3М Ацетат натрия	1 мл	5 мл (5 x 1 мл)

\* 1 единица активности ДНКазы E соответствует такому количеству фермента (мкг), которое увеличивает оптическую плотность раствора, содержащего 25 мкг общей ДНК тимуса теленка, на 0.01 условную единицу в минуту при 260 нм, 25 °С.

## Условия хранения и транспортировки

**Хранение и транспортировка:** –20 °С.

**Срок годности:** 12 месяцев с даты поставки при соблюдении условий хранения и транспортировки.

## Количество реакций

Набор EK007S рассчитан на 50 реакций удаления геномной ДНК из препаратов РНК или 100 реакций удаления ДНК матрицы после *in vitro* транскрипции.

Набор EK007M рассчитан на 250 реакций удаления геномной ДНК из препаратов РНК или 500 реакций удаления ДНК матрицы после *in vitro* транскрипции.

## Область применения

- Удаление геномной ДНК из препаратов РНК.
- Удаление ДНК-матрицы после *in vitro* транскрипции.

## Основные характеристики

- Оптимальная температура работы: 37 °С.
- Оптимальное количество ДНК на 1 е.а. ДНКазы E: 500 нг.
- Разрушает ДНК до одноцепочечных олигонуклеотидов.
- Не содержит РНКаз.
- Время реакции: 10 минут.

## Необходимое оборудование и дополнительные материалы

- Твердотельный термостат.
- Настольная центрифуга для пробирок с ускорением 13 000 g.
- Вортекс.
- Мини-центрифуга.
- Автоматические дозаторы от 1 до 1 000 мкл.
- Наконечники для дозаторов с фильтрами.
- Микроцентрифужные пробирки объемом 1.5 мл.
- Этанол 80% и 96%.

## Протокол

Общее время работы: 1 час.

### 1. Подготовка растворов

**Внимание!** Вследствие электростатических эффектов, лиофилизированный осадок «ДНКазы E» может отделиться от дна пробирки и оказаться на крышке. При вскрытии пробирки проследите, что осадок остался внутри пробирки.

1.1. Добавьте «Буфер для хранения ДНКазы» в пробирку с лиофилизированной «ДНКазой Е» в количестве:

ЕК007S — 100 мкл;

ЕК007М — 500 мкл.

1.2. Аккуратно перемешайте пипетированием, инкубируйте 1 минуту при комнатной температуре. Затем перемешайте встряхиванием, сбросьте капли центрифугированием.

Напишите на этикетке дату растворения «ДНКазы Е».

## 2. Удаление геномной ДНК из препаратов РНК

**Внимание!** Все манипуляции с РНК проводить в зоне, свободной от РНКаз. Во время работы использовать перчатки, наконечники с фильтром и другой лабораторный пластик, свободный от РНКаз.

В процессе работы РНК держать на льду.

2.1. Смешайте в пробирке следующие компоненты:

РНК: до 1 мкг;

10X Реакционный буфер для ДНКазы: 1 мкл;

Растворенная ДНКаза Е: 1 мкл;

Вода\*: до 10 мкл.

\* Используйте воду для ПЦР (например, «Вода деионизированная, свободная от нуклеаз», кат. ## РВ207S/М/Л, Евроген).

▶ Рекомендуется использовать РНК высокого качества (не деградированную).

▶ Для дополнительной защиты РНК от деградации РНКазами рекомендуется добавить в реакционную смесь 0.5 мкл ингибитора РНКаз (например, Ингибитор РНКаз RiboCare, кат. ## ЕК005S/М, Евроген).

2.2. Реакционную смесь тщательно перемешайте пипетированием и инкубируйте в течение 10 минут при 37 °С.

2.3. Для остановки реакции добавьте 1 мкл «10X Стоп-буфера».

2.4. Проведите переосаждение РНК этанолом (см. п. 4).

### 3. Удаление ДНК матрицы после *in vitro* транскрипции

3.1. После завершения реакции *in vitro* транскрипции в реакционную смесь добавьте растворенную «ДНКазу E» из расчета: 2 мкл на 1 мкг ДНК матрицы.

3.2. Реакционную смесь тщательно перемешайте пипетированием и инкубируйте в течение 10 минут при 37 °С.

3.3. Для остановки реакции добавьте X мкл «10X Стоп-буфера», где

$$X = \frac{\text{объем реакционной смеси}}{10}$$

3.4. Проведите переосаждение РНК этанолом (см. п. 4).

### 4. Протокол переосаждения реакционной смеси этанолом

4.1. Доведите объем реакционной смеси водой без РНКаз до 100 мкл.

4.2. Добавьте 10 мкл «3М Ацетата натрия» и 1 мкл соосаждителя. Перемешайте смесь на вортексе и сбросьте капли.

4.3. Добавьте 300 мкл 96% этанола. Перемешайте смесь на вортексе.

4.4. Центрифугируйте пробирку в течение 15 минут на максимальных оборотах (13 000 g). В процессе центрифугирования на дне пробирки формируется белый осадок РНК.

4.5. Аккуратно удалите надосадоочную жидкость, не задевая осадок дозатором.

■ **Внимание!** Осадок может открепиться от дна пробирки.

4.6. Аккуратно по стенке пробирки добавьте 0.5 мл 80% этанола.

4.7. Центрифугируйте в течение 5 минут на максимальных оборотах (13 000 g).

4.8. Повторите п.п. 4.5.–4.7.

4.9. Аккуратно удалите надосадоочную жидкость, не задевая осадок дозатором, и подсушите осадок в течение 2 минут при 37 °С или при комнатной температуре в течение 5–10 минут. Осадок должен стать полностью прозрачным (бесцветным).

4.10. Растворите осадок в необходимом объеме воды без РНКаз.

ЗАО Евроген

Москва 117997

ул. Миклухо-Маклая 16/10, к. 15

Тел.: +7 (495) 784-7084

order@evrogen.ru

www.evrogen.ru