DNase 残留定量检测试剂盒（荧光探针法）

产品货号：BP-16-100

珠海宝锐生物科技有限公司
Zhuhai Biori Biotechnology Co.,Ltd
网址：www.biori.com
咨询电话：0756-8699969
邮箱：marketing@biori.com
地址：珠海市香洲区水岸一路88号

DNase 残留定量检测试剂盒（荧光探针法）

产品概述

脱氧核糖核酸酶(DNase)是一种能够水解 DNA 分子磷酸二酯键的酶。脱氧核糖核酸酶和核糖核酸酶(RNase)类似，广泛存在于实验环境和生物物体中，由于核酸酶能够降解核酸，它的存在会对许多实验造成干扰，因此有必要对 DNase 的存在进行测定。现有检测 DNase 的方法有核酸水解凝胶电泳法、紫外分光光度计法、高效液相色谱法（HPLC）和电化学方法等等，但存在耗时长、无法准确定量、灵敏度低或受限于仪器设备等问题。宝锐生物自主研发并推出的 DNase 残留定量检测试剂盒通过荧光探针法原理，可快速定量检测 DNase，且具备高灵敏度、操作简便等优势。本试剂盒内使用的 DNase 底物是一种合成的 DNA 寡核苷酸探针，其一端具有 VIC 荧光基团(Fluorophore)，又称供体(Donor)，另一端具有 BHQ1 淬灭基团(Quencher)，又称受体(Acceptor)。这两个基团的吸收光谱有一定的重叠，当这两个荧光基团间的距离合适时，荧光能量由供体向受体转移，导致供体荧光分子自身的荧光强度衰减。当该底物被 DNase 切割后，DNA 底物的首尾两端分离，两个基团分开，VIC 的荧光不再被 BHQ1 淬灭，即可检测到 VIC 的荧光，荧光信号的增加速率与酶的数量和活性呈正相关。

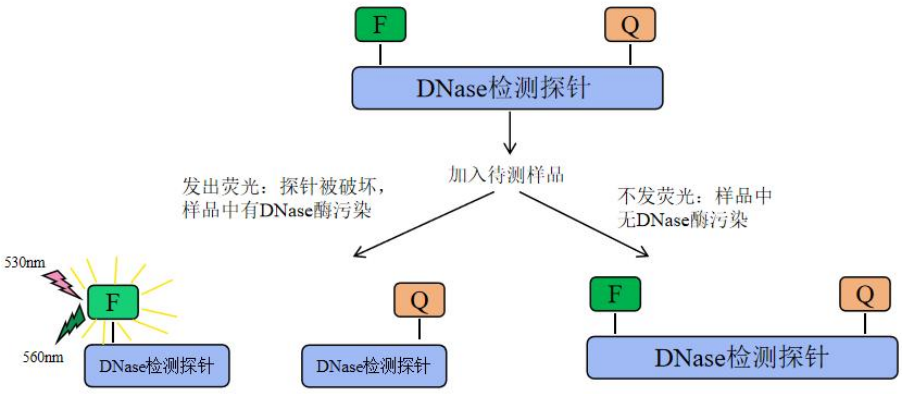


图 1 宝锐 DNase 残留检测试剂盒（荧光探针法）检测原理图

试剂盒组成

产品名称	组分编号	组分名称	规格
DNase 残留定量检测试剂盒(荧光探针法)（BP-16-100）	BP-E04	DNase I（2U/μL）	10μL
	BP-AS-36	DNase Substrate	0.8mL
	BP-AS-13	10× DNase I Reaction Buffer	1mL
	BP-AS-11	无酶水	10mL

保存条件

-20±5°C存储。其中 DNase Substrate（BP-AS-36）组分需要避光保存。

自备材料

建议使用 96 孔黑板（无 DNase）和可测荧光强度的酶标仪。

实验流程

1. 检测试剂的准备

1.1 使用前将 10×DNase I Reaction Buffer、DNase Substrate 和无酶水等试剂平衡至室温后备用。DNase I（2U/μL）存

珠海宝锐生物科技有限公司
Zhuhai Biori Biotechnology Co.,Ltd
网址:www.biori.com
咨询电话:0756-8699969
邮箱:marketing@biori.com
地址:珠海市香洲区水岸一路88号

放于冰上备用，使用结束后-20°C保存。

1.2 将 10×DNase I Reaction Buffer 用无酶水稀释为 1×。例如取 500μL 10×DNase I Reaction Buffer，加入 4500μL 无酶水，混匀，即得 5mL 的 1×DNase I Reaction Buffer。

2. 待测样品的准备

用 1×DNase I Reaction Buffer 将待测样品稀释至适当浓度(首次检测不确定浓度范围时，可以进行梯度稀释)，置于冰上备用。

3. DNase I 标准曲线的设置

将 DNase I（2U/μL）用 1×DNase I Reaction Buffer 稀释至适当的浓度梯度。初次检测时可设置为 0、0.00016、0.00008、0.00004、0.00002、0.00001、0.000005、0.0000025U/μL，分别取 10μL 加入 96 孔板中，此时，DNase I 量分别为 0、0.0016、0.0008、0.0004、0.0002、0.0001、0.00005、0.000025U。可自行设置适宜的 DNase I 浓度进行标准曲线的设定。

4. 检测体系的设置

参照如下体系依次加入试剂盒各组分及样品；为获得更加可靠的检测结果，建议每个样品设置平行孔或 3 个复孔。

Reagent	Blank Control	Sample	Positive Control
1×DNase I Reaction Buffer	92μL	82μL	82μL
DNase I	0	0	10μL
Sample	0	10μL	0
DNase Substrate	8μL	8μL	8μL
Total Volume	100μL	100μL	100μL

注：若已设置 DNase I 标准曲线，则无需设置阳性对照。

5. 检测

5.1 振荡混匀 1-2 分钟，确保混合充分。

5.2 混匀后立即使用荧光酶标仪进行荧光测定。设置荧光酶标仪温度为 37°C，激发波长为 530nm、发射波长为 560nm，每 5 分钟读取一次数值。连续测定的时间可以根据待测样品中 DNase 活性进行调整，但是需确保获得 6 个点以上的数据。

6. 计算

进行 DNase I 检测时，可通过绘制的标准曲线及样品荧光强度值进行样品中 DNase I 酶活的计算。本试剂盒用于 DNase I 标准品的检测结果参考图 2。

珠海宝锐生物科技有限公司
Zhuhai Biori Biotechnology Co.,Ltd
网址:www.biori.com
咨询电话:0756-8699969
邮箱:marketing@biori.com
地址:珠海市香洲区水岸一路88号

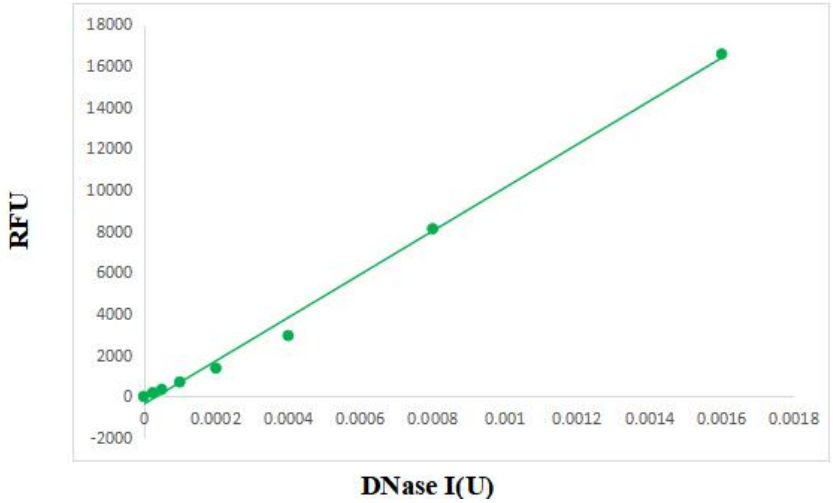


图 2 宝锐 DNase 残留定量检测试剂盒（荧光探针法）对 DNase I 标准品的检测效果

注意事项

1. 建议在超净工作台或生物安全柜等相对洁净的环境中进行脱氧核糖核酸酶的残留检测，以免待检样品受环境中脱氧核糖核酸酶的影响。
2. 10×DNase I Reaction Buffer、DNase Substrate 和无酶水需完全平衡至室温后再使用。各组分首次使用时建议先将管内液体离心至管底后再开盖。
3. 操作时请注意防止试剂被 DNase 污染，如有必要，每次实验前可使用核酸酶清除剂清除环境中存在的 DNase。
4. 实验所需的 96 孔黑板和其他耗材等都需要保证无 DNase 污染。
5. 实验过程中注意个人防护，请穿实验服并戴一次性手套操作。
6. 使用前应混匀，避免反复冻融。

珠海宝锐生物科技有限公司
Zhuhai Biori Biotechnology Co.,Ltd
网址：www.biori.com
咨询电话：0756-8699969
邮箱：marketing@biori.com
地址：珠海市香洲区水岸一路88号