

Quick Guide

Beyond the PCR technology,
BIOFACT promises the progress for your research.



BioFACT™ DNase I (RNase-free)

[Cat. No. RP117-20h]

Contents	RP117-20h
HiGene™ DNase I (RNase-free)	2,000 U
10X DNase I Reaction Buffer	1.5 mL X 4 ea
Stop Solution	1 mL X 1 ea

Discription

본 제품은 Bovine pancreas 유래의 DNase I 유전자를 발현, 정제된 재조합 단백질로 single-/double-stranded DNA, chromatin, RNA-DNA hybrid를 무작위로 분해하여 5'-P / 3'-OH 말단을 갖는 oligonucleotide를 생성하는 endonuclease입니다.

HiGene™ Total RNA Prep Kit (Ver.2.0) 및 타사 RNA Prep Kit 제품에도 적용가능합니다.

Feature

- Source : Bovine pancreas
- Concentration : 2 units/ μ l
- Activity : Activity (Kunits, Protein) @ 25°C : > 2500 units/mg protein, RNase : None

Application

- Degradation of DNA template in transcription reactions
- Removal of contaminating genomic DNA from RNA samples
- DNase I footprinting
- Nick translation

Unit Definition

One Kunitz unit is defined as the amount of enzyme required to produce an increase in absorbance of 260 nm of 0.001/min/ml at 25°C of highly polymerized DNA

Reagents supplied with Enzyme Reaction Buffer

- 10X DNase I Reaction Buffer
- 1X DNase I Reaction Buffer (100 mM Tris-HCl (pH 8.0), 25 mM MgCl₂, 5 mM CaCl₂)

Storage Buffer

10 mM Tris-HCl pH 7.5, 10 mM CaCl₂, 10 mM MgCl₂ and 50% [v/v] glycerol, store at -20 °C.

Storage Temperature

-20°C. Avoid exposure to frequent temperature changes

Expiration Date : -20 ± 5°C 보관 시 1년

A. Typical DNase I Reaction

1. 아래와 같이 Reaction Mixture를 제조하여 반응합니다.

Reaction Mixture (Reaction vol. : 50 μ l)	
Total RNA (1ug)	- μ l
10X DNase I Reaction Buffer	5 μ l
DNase I (RNase-free)	1 μ l
Add D.W to	50 μ l
-> 37 °C 10~15 min Incubation	

- 반응이 끝난 mixture에 1 μ l Stop Solution를 첨가해 줍니다.
- Calcium/Magnesium ion에 결합하여 DNase I을 불활성화 시킵니다.
- 65°C에서 10분간 Inactivation 시킵니다.

B. DNase I Reaction (For RNA Isolation)

1. 아래와 같이 Reaction Mixture를 제조하여 반응합니다.

Reaction Mixture (Reaction vol. : 100 μ l)	
10X DNase I Reaction Buffer	10 μ l
DNase I (RNase-free)	2 μ l
Add D.W to	100 μ l

- RNA 추출 단계 중 아래에 해당되는 단계에서 Reaction Mixture를 처리합니다.
Cell Lysis -> Column Binding -> column washing 1회 -> **mixture column 처리** -> 상온에서 10~15분간 반응 -> column washing 2회 -> 공회전 -> Elution



Please contact us, if you have any question and need help.
T)1670-5695 www.bio-ft.com info@bio-ft.com

2016. 07. 05 (설명서 개정일)

주의사항.

본 제품은 실험 전문 인력이 사용하도록 한다.

제품보증 및 책임사항

- 제품의 유효기간은 구입일로부터 1년이다.
- 설명서에 나온 지침에 따라 제품을 사용하였을 경우에만 모든 제품의 결과를 보증한다.
- 실험자의 잘못된 사용이나 부주의로 인해 문제가 발생하였을 경우에는 교환이 되지 않는다.

안전경고 및 응급조치 요령

- 눈, 호흡기, 피부 접촉을 피한다.
- 눈에 들어갔을 때 : 흐르는 물로 눈을 씻을 것.
자극이 지속되면 의사의 진료를 받을 것.
- 피부에 접촉시 : 접촉된 부위를 비누와 물로 충분히 씻을 것.
자극이 지속되면 의사의 진료를 받을 것.
- 동상의 위험이 있으니 반드시 장갑 착용 후 사용할 것.

사용자 유의사항

- 유효기한이 지난 제품의 사용을 금지한다.
- 냉동 제품을 자주 열리고 녹이는 과정을 반복할 경우, 활성이 저하될 수 있으므로 주의한다.
필요한 경우, 일정량을 분주하여 보관, 사용하도록 한다.
- 조작성 경해진 순서에 따라 정확히 하여야 하며, 키트는 개봉 후 즉시 사용한다.
- 분리된 검체 DNA/RNA 상태에 따라 상이한 결과를 보일 수 있다.
- 오염된 검체는 부정확한 결과를 나타낼 수 있으므로 주의한다.

알림.

- Genomic DNA / Plasmid DNA / Total RNA는 사용하는 Primer의 종류에 따라 다양한 농도로 사용할 수 있다.
- NTC (Non-Template Control)을 이용하여 실험 환경내의 오염을 확인하도록 한다.
* 실험의 마지막 단계에서 적정량의 DNA / RNA template를 넣어 준다. NTC에는 template 대신 RNase / DNase free water를 넣어 Negative control로 사용한다.

참고사항.

Template 종류에 따른 사용량 (PCR Cycles)

- Animal genomic DNA : 50 ng ~ 200 ng (30 ~ 35 cycles)
10 ng ~ 50 ng (30 ~ 40 cycles)
- Bacterial genomic DNA : 10 ng ~ 50 ng (30 ~ 35 cycles)
1 ng ~ 5 ng (30 ~ 40 cycles)
- Plasmid and Lamda DNA : 1 ng ~ 5 ng (30 ~ 40 cycles)

Troubleshooting Guide

(주) 바이오팩트 사용 시 먼저 check해 주세요.

dNTP 농도 Check: (주) 바이오팩트 dNTP Mix의 농도는 each 10mM입니다.
Reaction Vol. 50 μ l 기준 dNTP (each 10mM) 1 μ l를 사용합니다.

Enzyme 농도 Check: Reaction Vol. 50 μ l 기준 1.25 Unit을 사용합니다.
Band Helper™ 농도 조절: DNA 구조적인 문제 시 Final 0X~2X로 조절하여 사용합니다.

Low yield or No Band

농도 check
01. dNTP 농도 check
적정량보다 초과 사용 시 substrate inhibition 작용으로 인해 target DNA를 생성하는 데 문제가 발생할 수 있습니다.
02. Band Helper™

온도/시간 check
01. Annealing Temperature(AT) check
 $T_m = (A+T) \times 2 + (G+C) \times 4$, $AT = T_m - (4-6^\circ C)$ 이 산출법으로 설정 후에도 PCR이 되지 않으면 AT를 2°C 낮추어 진행합니다.
02. Pre-denaturation 온도 및 시간 (제품 Protocol 참조)
03. Extension time Check
일반적으로 0.5~1 min/kb로 설정 단, Pfu 는 1~2min/kb

template Primer Check
01. Primer degradation check
Primer dilution 후 4°C에서 장기간 보관 시 분해되어 PCR에 영향을 줄 수 있습니다. 새로 dilution하거나 재작하여 사용합니다.
02. Starting template check
보관상태가 불량하거나 농도가 낮은 경우, quality가 낮은 경우 문제가 발생할 수 있습니다. 새로 prep하거나 사용량을 늘립니다.

Smear Band

농도 check
01. Enzyme 농도 check
Reaction Vol. 50 μ l 기준 1.25 Unit을 사용하며, 계속 smear될 경우 Enzyme 양을 줄여가며 reaction합니다.
02. dNTP 농도 check
Long PCR일 경우 적게 사용 시 smear될 수 있습니다.
03. Template 농도 check
Template를 dilution하여 사용합니다.

PCR condition check
01. Extension time Check
Extension time이 적정시간보다 길 경우, target size보다 긴 단편들이 형성되어 smear될 수 있습니다.
02. Cycle number check
cycle 수를 줄여서 PCR합니다.

온도/시간 check
01. Annealing Temperature(AT) check
 $T_m = (A+T) \times 2 + (G+C) \times 4$, $AT = T_m - (4-6^\circ C)$ 이 산출법으로 설정 후에도 PCR이 되지 않으면 AT를 2°C 낮추어 진행합니다.
02. Pre-denaturation 온도 및 시간 (제품 Protocol 참조)

Non-Specific Band

TRY
01. Annealing Temperature(AT)를 높여 PCR한다.
02. Band Helper™를 첨가한다.
03. Hot Start Enzyme를 사용하여 PCR을 진행한다.

