

# DNase I

## Deoxyribonuclease 1 (E.C. 3.1.21.1)

From bovine pancreas

fon:  
 +49 (0)731 - 3608 123  
 fax:  
 +49 (0)731 - 3608 962  
 eMail:  
 info@genaxxon.com  
 internet:  
 www.genaxxon.com

Product	Cat#	Package size
DNase I, min. 3000 U/mg (Kunitz)	M3028.0010	10mg
DNase I, min. 3000 U/mg (Kunitz)	M3028.0050	50mg
DNase I, min. 3000 U/mg (Kunitz)	M3028.0500	500mg

### Product description

Deoxyribonuclease I (DNase I) from bovine pancreas is an endonuclease (glycoprotein), which preferentially cleaves the phosphodiester bond in DNA behind pyrimidine nucleotides. This results in a polynucleotide with a 5'-phosphate and a free OH-group in position 3'. DNase I cleaves single-stranded and double-stranded DNA as well as chromatin. The specificity of the enzyme reaction (single-strand-"Nicks" versus double-stranded breaks) is determined by the ions available. In the presence of Mg<sup>2+</sup> single-strand nicks are generated and in the presence of Mn<sup>2+</sup> double-strand breaks. The pH-optimum of DNase I is 7.8 and it is activated by divalent cations. Maximum activation requires the presence of Mg<sup>2+</sup> and additional Ca<sup>2+</sup>. Calcium ions (5 mM) protect DNase I from proteolytic digest. Inhibition is achieved by citrate, if activation is done by magnesium, but not if manganese has been the activator. Besides, it is inhibited by chelators such as EDTA and SDS or β-mercaptoethanol.

The enzyme is used in molecular biology techniques like digestion of DNA, in the RNA purification (ref. 2 Suppl. 1 pp. 4.1.4) or generating "random nicks" for "nick translation" (ref. 2 Suppl. 9 pp.. 3.5.4-6) or "footprint"-assays (ref. 2 Suppl. 7 chapter 12.4) or investigation on chromatin (ref. 2 Suppl. 48 chapter 21.4.1).

DNase I is readily soluble in e.g. 0.15 M sodium chloride or in reaction buffer (e.g. 50 mM Tris/HCl, pH 7.5; 10 mM MgCl<sub>2</sub> (single-strand nicks) and 10 mM MnCl<sub>2</sub> (double-strand breaks), respectively; 50 µg/ml BSA; ref. 2 Suppl. 8 page 3.12.5). For storage dissolve DNase I in 50% glycerol (w/v); 20 mM Tris/HCl, pH 7.5; 1 mM MgCl<sub>2</sub>. For stability reasons the concentrations should be at least 1 mg/ml. Do not vortex. This solution is stable for more than one year (ref. 2 Suppl. 8 page 3.12.5). The lyophilised form is stable for 2-5 years if kept at + 4°C. If a solution is protease-free, DNase I will not lose significant activity at pH 5-7 and 62°C for 5 hours. The enzyme may be heat-inactivated (10 minutes at 99°C).

RNAse-free DNase I: Dissolve DNase I at 1mg/mL in 0.1 mM iodoacetic acid plus 0.15 M sodium acetate at a final pH of 5.3. The solution is then heated 40 minutes at 55°C and cooled. Finally, 1 M CaCl<sub>2</sub> is added to the solution to 5 mM. Store frozen in small aliquots (according to ref. 2 page 3.12.6 Supplement 8).

### Material needed but not supplied:

- 10X Reaction Buffer: 400 mM Tris/HCl (pH 8.0), 100 mM MgSO<sub>4</sub> and 10 mM CaCl<sub>2</sub>.
- Storage Buffer: 20 mM Tris/HCl (pH 7.5), 50% glycerol (v/v), 1 mM MgCl<sub>2</sub>. conc. of DNase I: not below 1mg/mL!
- Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> or Mn<sup>2+</sup>
- Stop solution: 20 mM EGTA (pH 8.0)

### Unit definition

One unit is defined as the amount of enzyme required to completely degrade 1µg of lambda DNA in 10 minutes at 37°C in 50µL of a buffer containing 40 mM Tris/HCl (pH 8.0), 10 mM NaCl, 6 mM MgCl<sub>2</sub> and 10 mM CaCl<sub>2</sub>. Under these conditions one unit of DNase I activity is comparable to 1 Kunitz unit.

Alternative definition: One unit is defined as the amount of enzyme which causes an increase of absorbance at 260 nm of 0.001 per minute at 25 °C and pH 5.0 based on the method of Kunitz.

---

fon:  
+49 (0)731 - 3608 123  
fax:  
+49 (0)731 - 3608 962  
eMail:  
info@genaxxon.com  
internet:  
www.genaxxon.com

### Inhibitors

EGTA; EDTA; DTT; salt concentration > 100 mM

### Stability

In lyophilised form DNase I is stable for more than 3 years at -20°C.  
In solution (conc. > 1mg/mL), DNase I is stable for more than 1 year at -20°C.

### Associated activities

To test RNase activity, 50ng of [3H]RNA is incubated with 5 units DNase I in transcription buffer for 1 hour at 37°C, and the release of radiolabeled nucleotides is monitored by scintillation counting of TCA-soluble material. For passing the test the maximum count has to be below 3%.

### Literature

- (1) Sambrook, J. & Russell, D.W. (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd Edition. Seiten A4.40-42. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- (2) Ausubel, F.A., Brent, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A. & Struhl, K. (eds.) 2001. *Current Protocols in Molecular Biology*. John Wiley & Sons, New York.
- (3) McDonald, M.R. (1955) *Methods Enzymol.* 2, 437-447 Deoxyribonukleasen
- (4) Campbell, V.W. & Jackson, D.A. (1980) *J. Biol. Chem.* 255, 3726-3735  
Der Effekt von zweiwertigen Kationen auf den Wirkungsmechanismus von DNase I.
- (5) Meinkoth, J. & Wahl, G.M. (1987) *Methods Enzymol.* 152, 91-94 Nick-Translation.
- (6) Cobianchi, F. & Wilson, S.H. (1987) *Methods Enzymol.* 152, 94-110  
Enzyme zum Modifizieren und Markieren von DNA und RNA.

### Specifications

Source:	bovine pancreas
Molecular weight:	approx. 31 kDa
CAS-Number:	[9003-98-9]
Activity:	min. 3000 U/mg (Kunitz)
Solubility:	Dissolves readily at 5 mg/mL in 150 mM NaCl to give a clear, colourless solution.
Storage:	- 20°C.

# DNase I

## Deoxyribonuclease 1 (E.C. 3.1.21.1)

Aus Rinderpankreas

fon:  
 +49 (0)731 - 3608 123  
 fax:  
 +49 (0)731 - 3608 962  
 eMail:  
 info@genaxxon.com  
 internet:  
 www.genaxxon.com

Product	Cat#	Package size
DNase I, min. 3000 U/mg (Kunitz)	M3028.0010	10mg
DNase I, min. 3000 U/mg (Kunitz)	M3028.0050	50mg
DNase I, min. 3000 U/mg (Kunitz)	M3028.0500	500mg

### Produktbeschreibung

Deoxyribonuklease I (DNase I) aus Rinderpankreas ist eine Endonuklease (Glykoprotein), die die Phosphodiesterbindung in der DNA bevorzugt hinter Pyrimidinnukleotiden spaltet. Daraus ergibt sich ein Polynukleotid mit einem 5'-Phosphat und eine freie OH-Gruppe in Position 3'. DNase I schneidet einzelsträngige und doppelsträngige DNA sowie Chromatin. Die Spezifität der Enzymreaktion (Einzelstrang-'Nicks' versus Doppelstrang-Brüche) wird durch die verfügbaren Ionen bestimmt. In Anwesenheit von  $Mg^{2+}$  werden Einzelstrang-'Nicks' produziert und bei  $Mn^{2+}$  Doppelstrang-Brüche. Das pH-Optimum des Enzyms liegt bei 7,8 und es wird durch zweiwertige Metallionen aktiviert. Maximale Aktivierung bedarf der Anwesenheit von  $Mg^{2+}$  und zusätzlich  $Ca^{2+}$ . Calcium-Ionen (5 mM) schützen DNase I vor proteolytischem Verdau. Eine Hemmung wird durch Citrat erzielt, wenn die Aktivierung durch Magnesium erfolgte, nicht aber, wenn Mangan als Aktivator fungierte. Des Weiteren hemmen Chelatoren wie EDTA und SDS oder B-Mercaptoethanol DNase I.

Das Enzym findet in molekularbiologischen Techniken Anwendung zum Verdau von DNA, wie der RNA-Reinigung (Ref. 2 Suppl. 1 Seiten 4.1.4), dem 'Setzen' von 'random nicks' für die 'nick translation' (Ref. 2 Suppl. 9 Seiten 3.5.4-6), 'Footprint'-Experimenten (Ref. 2 Suppl. 7 Kapitel 12.4) oder Chromatin-Untersuchungen (Ref. 2 Suppl. 48 Kapitel 21.4.1).

Deoxyribonuklease I ist leicht löslich in 0,15 M Natriumchlorid oder in Reaktionspuffer (z. B. 50 mM Tris · Cl, pH 7,5; 10 mM  $MgCl_2$  (Einzelstrang-'Nicks') bzw. 10 mM  $MnCl_2$  (Doppelstrang-Brüche); 50 µg/ml BSA; Ref. 2 Suppl. 8 Seite 3.12.5). Zur Lagerung kann DNase I in 50 % Glycerin (w/v); 20 mM Tris · Cl, pH 7,5; 1 mM  $MgCl_2$  gelöst werden. Die Konzentration sollte aus Stabilitätsgründen mindestens 1 mg/ml betragen. In dieser Lösung ist DNase I mindestens ein Jahr stabil (Ref. 2 Suppl. 8 Seite 3.12.5). In lyophilisierter Form ist sie 2 - 5 Jahre bei +4° C stabil. Wenn Protease-frei, verliert DNase I in Lösung bei pH 5 - 7 bei 62° C für 5 Stunden kaum an Aktivität. Das Enzym kann durch Hitze (10 Minuten) bei 99° C inaktiviert werden.

RNAse-freie DNase I: 1mg/mL DNase I in 0,1 M Iodessigsäure plus 0,15 M Natriumacetat bei einem finalen pH-Wert von 5,3. Die Lösung wird dann für 40 Minuten auf 55° C erhitzt und anschließend gekühlt. Zuletzt wird 1 M  $CaCl_2$  mit einer Endkonzentration von 5 mM zugegeben. In kleinen Aliquots bei -20° C lagern (gemäß Ref. 2 Seite 3.12.6 Supplement 8).

### Benötigtes zusätzliches Material:

- 10X Reaktionspuffer: 400 mM Tris/HCl (pH 8.0), 100 mM  $MgSO_4$  und 10 mM  $CaCl_2$ .
- Lagerpuffer: 20 mM Tris/HCl (pH 7,5), 50% Glycerin (v/v), 1 mM  $MgCl_2$ . Konz. der DNase I: nicht unter 1mg/mL!
- $Ca^{2+}$  und  $Mg^{2+}$  or  $Mn^{2+}$
- Stopplösung: 20 mM EGTA (pH 8.0)

### Definition der Aktivität

Eine "Aktivitätseinheit" ist definiert als die Menge an Enzym, die benötigt wird, um 1µg lambda DNA komplett in 10 Minuten bei 37° C in 50µL Puffer, der 40 mM Tris/HCl (pH 8,0), 10 mM NaCl, 6 mM  $MgCl_2$  und 10 mM  $CaCl_2$  enthält, zu verdauen. Unter diesen Bedingungen entspricht 1 Einheit DNase I Aktivität 1 Kunitz unit.

Alternative Definition: Eine Einheit ist definiert als die Menge Enzym, die einen Anstieg um 0.001 in der Absorption (260 nm) pro Minute bei 25° C und pH 5.0, basierend auf der Methode von Kunitz, verursacht.

---

fon:  
+49 (0)731 - 3608 123  
fax:  
+49 (0)731 - 3608 962  
eMail:  
info@genaxxon.com  
internet:  
www.genaxxon.com

## Inhibitoren

EGTA; EDTA; DTT; Salzkonzentrationen > 100 mM

## Stabilität

In lyophilisierter Form ist DNase I für mehr als 3 Jahre bei -20°C stabil.  
In Lösung (konz. > 1mg/mL), ist DNase I für mehr als 1 Jahr bei -20°C stabil.

## Zusätzliche Aktivitäten

Um auf RNase Aktivität zu testen werden 50ng von [3H]RNA mit 5 units DNase I in transkriptionspuffer für 1 Stunde bei 37°C inkubiert. Die Freisetzung von radioaktiven Nukleotiden wird nach TCA-Fällung mittels Scintillationszähler gemessen. Es dürfen max. 3% Zunahme an Radioaktivität gemessen werden.

## Literatur

- (1) Sambrook, J. & Russell, D.W. (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd Edition. Seiten A4.40-42. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- (2) Ausubel, F.A., Brent, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A. & Struhl, K. (eds.) 2001. *Current Protocols in Molecular Biology*. John Wiley & Sons, New York.
- (3) McDonald, M.R. (1955) *Methods Enzymol.* 2, 437-447 Deoxyribonukleasen
- (4) Campbell, V.W. & Jackson, D.A. (1980) *J. Biol. Chem.* 255, 3726-3735  
Der Effekt von zweiwertigen Kationen auf den Wirkungsmechanismus von DNase I.
- (5) Meinkoth, J. & Wahl, G.M. (1987) *Methods Enzymol.* 152, 91-94 Nick-Translation.
- (6) Cobianchi, F. & Wilson, S.H. (1987) *Methods Enzymol.* 152, 94-110  
Enzyme zum Modifizieren und Markieren von DNA und RNA.

## Spezifikationen

Ursprung:	Rinderpankreas
Molekulargewicht:	ca. 31 kDa
CAS-Number:	[9003-98-9]
Aktivität:	mind. 3000 U/mg (Kunitz)
Löslichkeit:	Leicht löslich bei 5 mg/ml in 150 mM NaCl. Ergibt eine klare, farblose Lösung.
Lagerung:	- 20°C.
Unitdefinition:	Eine Einheit ist definiert als die Menge Enzym, die einen Anstieg um 0.001 in der Absorption (260 nm) pro Minute bei 25°C und pH 5.0, basierend auf der Methode von Kunitz, verursacht.