

## DNase On Column Kit B

### 简介

DNase On Column Kit 是专门为柱式 RNA 抽提试剂盒而设计的。在 RNA 抽提过程中，插入 DNase 的柱上消化步骤，以确保得到无 DNA 污染的 RNA。DNase I 是一种非特异性的核酸内切酶，切割 DNA 产生具有 3'-羟基和 5'-磷酸末端的二、三和寡聚核苷酸产物。DNase I 可作用于单链、双链、DNA/RNA 杂交体。该产品可同 Magen 的柱式 RNA 抽提试剂盒相配合使用，也适合于其它公司的柱子 RNA 抽提试剂盒。

生物样品经裂解液匀浆裂解，加入乙醇调节结合条件后，转移到 RNA 柱子吸附 RNA。经洗涤液洗涤柱子去除高盐后，把 DNase 消化液加到柱子的膜上，室温(25-37°C)消化 15-30 分钟就可以彻底去除膜上吸附的 DNA，再经三次洗涤去除 DNase 和降解的 DNA 后，最后用 DEPC 水洗脱出 RNA。得到的 RNA 无 DNA 污染，无 DNase 污染，可直接用于荧光定量 RT-PCR 等。

### 组成

产品成分	R4911-01B	R4911-02B
纯化次数	50 Preps	250 Preps
DNase Buffer	6 ml	30 ml
DNase I (2Units/μl), Roche	600 μl	5 X 600 μl
Buffer MW1 *	13 ml	66 ml
Buffer MW2 *	20 ml	2 x 50 ml
RNase Free Water	10 ml	60 ml

### 保存条件

DNase On Column Kit B 保存于-20°C。

### 使用方法

- 按柱式 RNA 抽提小量或微量试剂盒的说明书进行操作：加入裂解液匀浆样品，裂解液/乙醇混合液上柱结合 RNA。
- 倒弃流出液，把柱子装在收集管中。加入 300μl Buffer MW2 至柱子中，12,000 × g 离心 1 分钟。**
- 倒弃流出液，小心取出柱子并重新装回收集管中。**  
取出柱子时不要颠倒或侧转，不要让柱子的底部碰到收集管中的液体。若碰到了液体，倒弃废液后，把柱子放回收集管中再离心一次甩干柱子。
- 按下表配制 DNase I 反应液，轻轻混匀。(取出柱子时不要让柱子的底部接触到溶液)。

成分	用量 (一个样品)
DNase Buffer	60 μl
DNase I	10 μl

- 把 DNase 反应液全部加到 RNA 柱子的膜中央。室温(25-37°C)静置 15-20 分钟。**
- 加入 500μl Buffer MW1 至柱子中；静置 1 分钟。12,000 × g 离心 30-60 秒。**
- 倒弃滤液把柱子装回收集管中。加入 500μl Buffer MW2 (已用乙醇稀释)至柱子中，12,000 × g 离心 30-60 秒。**
- 倒弃滤液把柱子装回收集管中。加入 500μl Buffer MW2 (已用乙醇稀释)至柱子中，12,000 × g 离心 30-60 秒。**
- 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。12,000 × g 离心空柱 2 分钟，以甩干柱子的基质。**
- 将柱子转移至新的 1.5ml 离心管。**加入 30-50μl RNase Free Water 至柱子的膜中央。静置 2 分钟。12,000 × g 离心 1 分钟。若 RNA 产量超过 30μg，再加入 30-50μl DEPC 水至柱子的膜中央进行第二次洗脱。**
- 弃去 RNA 柱子，把 RNA 保存于-80°C。