

## 去除 RNA 样品中基因组 DNA 污染

### 简介

由于 DNA 与 RNA 的相似性，在 RNA 纯化产物中总是会或多或少存在基因组 DNA 污染。对 Northern 杂交，cDNA 文库构建等应用，微量的基因组 DNA 污染并不会影响到实验结果，但是在 RT-PCR 或定量 RT-PCR 中，痕量的基因组 DNA 污染都会带来假阳性或干扰定量的结果。这是因为 DNA 和反转录的 cDNA 都可以作为 PCR 的模板，因此去除 RNA 产物中 DNA 污染在定量 RT-PCR 等相关表达分析中有着极其重要的意义。目前彻底去除基因组 DNA 最为可靠的方法是采用 DNase I 消化。Magen 公司根据不同的需求发展出三个 DNase 试剂盒。

产品名	特点	对象	优点
DNase RT Kit	液相消化，补 EDTA 加热失活	纯化 RNA	简单快捷
DNase on Column Kit	膜上消化，无 DNase 和降解 DNA 残留	纯化过程插入	方便高纯
DNase Plus Kit	液相消化再过柱纯化	纯化 RNA	高纯，样品量大

1. DNase RT Kit 是专门为纯化已提取的 RNA 样品而设计的。组织/细胞样品经 MagZol Reagent、Trizol Reagent 或其它方法提取得到 RNA。取 1ug 总 RNA 进行 DNase 酶切去除 DNA，经高温失活 DNase 后，可直接用于 cDNA 制备或 RT-PCR 应用。
2. DNase On Column Kit 可配合 Magen 公司 HiPure RNA 抽提试剂盒一起使用。组织/细胞样品经裂解液裂解后，转移至 HiPure RNA Column 吸附 RNA，加入 DNase 至柱子的滤膜中消化去除 DNA，然后加入洗涤液洗涤去除 DNase 和降解的 DNA。
3. DNase Plus Kit 将 DNase 液相消化和硅胶柱纯化相结合，为 RNA 样品的 DNA 去除和进一步纯化提取的完美的解决方案。1-20ug RNA 经 DNase 消化后，加入灭活剂变性失活 DNase，然后过柱进一步纯化去除 DNase、降解的 DNA 和其它杂质。

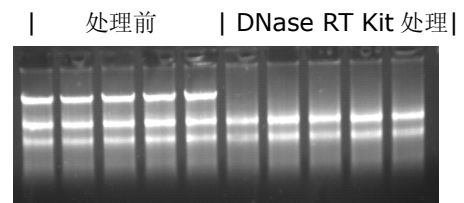
### 产品信息

产品名称	产品编号	样品处理量	价格
DNase RT Kit	R4912-01, 1000 次	1ug RNA	450
Dnase on Column Kit	R4911-01, 50 次	生物样品	485
DNase Plus Kit	R4913-01(50 次)	1-20ug RNA	885

### 实验结果

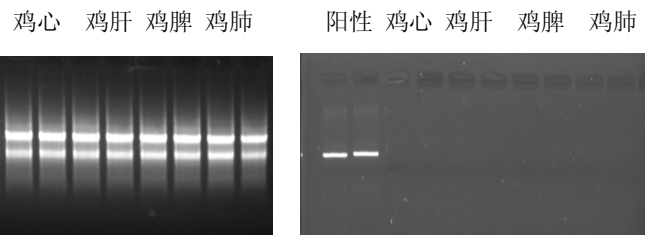
#### 1. DNase RT Kit 消化结果

取 1ug 含 DNA 污染的 RNA 样品，按 DNase RT Kit 方案处理。处理过程简单描述为：取 1ug 总 RNA，加入 1U DNase，1ul DNase Buffer，加入 DEPC 水至总体积为 10ul。混匀后，室温静置 10 分钟。加入 1ul 25Mm EDTA 混匀，65°C 水浴 10 分钟。最后纯处理前和处理后的样品上样于 1%琼脂糖凝胶电泳分析结果(如下图)。由图可知，经 DNase RT Kit 处理后，RNA 样品中 DNA 被消化去除，RNA 经 65oC 高温处理并不会降解。取处理前和处理后的 RNA 直接作为 PCR 模板扩增检测基因组 DNA 污染，结果表明，处理后的 RNA 样品都检测不到 DNA 污染(结果未显示)。



#### 2. DNase On Column Kit 处理效果

取较大的组织样品：鸡心（20mg），鸡肝（20mg），鸡脾（15mg），鸡肺（20mg）用 HiPure Total RNA Plus Kit 进行提取，提取时插入 DNase 进行膜上消化，最后用 DEPC 水洗脱出 RNA。取 1ug RNA 作为 PCR 模板，扩增 B-actin 基因以检测是否存在 DNA 污染。结果表明，处理 15-20mg 富含基因组 DNA 样品（鸡肝，鸡脾，鸡肺）时，得到的 RNA 都可以彻底去除 DNA 的污染。



(RNA 电泳图)

(RNA 直接 PCR 结果)

#### 3. DNase Plus Kit 处理效果

取 20ug 含 RNA 样品，按 DNase Plus Kit 方案处理。处理过程简单描述为：取 20ug 总 RNA，加入 20U DNase，10ul DNase Buffer，加入 DEPC 水至总体积为 100ul。混匀后 37°C 水浴 15-30 分钟。加入 350ul RTL Lysis Buffer 混匀，静置 10 分钟失活 DNase，加入乙醇混匀，过柱吸附 RNA，经两个洗涤液洗涤去除杂质，最后用 20ul DEPC 处理水洗脱出 RNA。紫外分光光度计测量表明，纯化的 RNA 含量为 18.5ug，回收高达 90-95%。PCR 检测结果表明，处理后的 RNA 无 DNA 污染。(结果未显示)。