

Marine Animal Genomic Miniprep Kit 海洋动物组织基因组DNA小量提取试剂盒

Technical literature is available at: www.mesgenbio.com. E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system: tech@mesgenbio.com

MESGENTM
INNOVATION BIOTECHNOLOGY

产品简介

本试剂盒适合于从多种海洋动物（如鱼类、虾类、贝类等）组织中提取总DNA。纯化过程不需苯酚或氯仿等有机溶剂，无需乙醇沉淀。本试剂盒采用优化的缓冲体系使裂解液中的DNA高效特异的结合到硅胶质离心吸附柱上，其他污染物可流过膜，蛋白、PCR和其他酶促反应的抑制剂可通过有效的洗涤步骤被有效去除，最后使用低盐缓冲液或水洗脱，即可获得高纯度DNA。纯化得到的DNA可以直接用于酶切、PCR、Real-Time PCR、文库构建、Southern Blot、分子标记等下游实验。

试剂盒组成

Component	MMA1205-50T	MMA1205-100T	MMA1205-250T
Solution L	12ml	24ml	60ml
Solution B	16ml	32ml	80ml
Solution W	18ml (Add 42ml ethanol)	36ml (Add 84ml ethanol)	90ml (Add 210ml ethanol)
RNase A	220 μ l	440 μ l	1100 μ l
Proteinase K	1ml	2ml	5ml
Elution Solution	10ml	20ml	50ml
吸附柱	50个	100个	250个

操作方法

- 取不超过25mg组织，经液氮充分研磨后（或者尽可能剪切成小的碎片），放入离心管中，加入200 μ l **Solution L**，涡旋振荡15秒。
注意：过多的样品会导致抽提效果下降。较小的组织碎片会使裂解速度加快，裂解效果提高；（**选做**）如须去除RNA，可在上述步骤完成后，加入4 μ l **RNase A**溶液，震荡混匀，室温放置5-10分钟。
- 加入20 μ l **Proteinase K**，涡旋混匀，简短离心，使管壁上的溶液收集到管底。56 $^{\circ}$ C孵育，直至组织完全溶解，短暂离心，使管壁上的溶液收集到管底。
注意：不同组织裂解时间不同，通常需1-3小时即可完成。对于不易裂解的组织样品，可以适当延长孵育时间甚至裂解过夜。
- 12,000 rpm（ \sim 13,400 \times g）离心5分钟，小心吸取上清液至新的离心管中。
- 加入300 μ l **Solution B**，充分颠倒混匀，短暂离心，使管壁上的溶液收集到管底，室温静置2分钟。
- 将步骤4所得到的溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱中，若一次不能加完溶液，可分多次转入。12,000rpm（ \sim 13,400 \times g）离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
- 向吸附柱中加入500 μ l **Solution W1**（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000rpm（ \sim 13,400 \times g）离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。
- 重复步骤6。
- 12,000 rpm（ \sim 13,400 \times g）离心2分钟，倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟，以彻底晾干。

注意：这一步目的是将吸附柱中残余乙醇去除，乙醇残留会影响后续酶促反应（酶切、PCR等）。

9. 将吸附柱置于一个新的离心管中，向吸附柱中间部位悬空加入50-200 μ l **Elution Buffer**，室温放置2-5分钟，12,000 rpm（ $\sim 13,400\times g$ ）离心1分钟，收集DNA溶液， -20°C 保存DNA。

注意事项

- 1) 洗脱液的pH值对洗脱效率有很大影响，若用水做洗脱液应保证其pH值在7.0-8.5。
- 2) 离心之前室温孵育5分钟可以增加产量。
- 3) 若Solution L中有沉淀，可在 37°C 水浴中重新溶解，摇匀后使用

产品特点

简单快速：较短时间内即可获得超纯的基因组DNA。

应用广泛：适用于多种动物细胞，动物组织以及部分植物组织，微生物样本等。

储存条件

室温（Proteinase K、RNase A -20°C 保存）

仅供科学研究，不得用于临床治疗