

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

MESGEN[™]
INNOVATION BIOTECHNOLOGY

产品简介

本试剂盒采用可以特异性结合核酸的离心吸附柱和独特的缓冲液系统，样品裂解后，DNA在高盐条件下与硅胶膜结合，在低盐、高pH值时DNA从硅胶膜上洗脱下来。本试剂盒适用于从小剂量的血液、干血点、血清/血浆、微量组织、漱口水、毛发、微切割组织等微量样品中提取基因组DNA，所得基因组DNA可直接用作PCR模板、酶切、杂交等分子生物学实验。

试剂盒组成

Component	MWG8925-50T
Solution AS	15mL
Solution GL	15mL
Solution PB	40mL
DNA Wash Buffer	12mL (add 48mL ethanol)
Elution Solution	15mL
Proteinase K	1mL
Carrier RNA	310 μ L

注意事项

1. 若Solution GL, Solution PB中有沉淀，可在37°C水浴中重新溶解。
2. 所有的样品使用前请平衡到室温(15-25°C)。
3. 第一次使用试剂盒时，请按照试剂瓶上的提示在DNA Wash Buffer添加无水乙醇。
4. 为了确保从微量样品中得到更多的DNA，试剂盒配备了Carrier RNA。由于Carrier RNA本身是小核酸，所以得到的基因组测定OD260值会比真实值偏大，建议将得到的基因组直接用PCR进行检测。

操作步骤

一、从少量血样中提取基因组DNA

操作步骤

使用前请先在DNA Wash Buffer中加入无水乙醇（加入体积请参照瓶上的标签）。

1. 取1-100 μ L血液到1.5mL的离心管中。
2. 不足100 μ L的血液样本加Solution AS补足到100 μ L。
3. 加入10 μ L的Proteinase K溶液。注意：如果需要去除RNA，可加入5 μ L RNase A (100mg/ml) 溶液（货号：MRA2504），振荡15sec，室温放置5min。
4. 加入100 μ L的Solution GL（如果最初所取血液样品体积为1-10 μ L，请加入1 μ L Carrier RNA储存液，浓度为1 μ g/ μ L），轻轻颠倒混匀，简短离心，以去除管盖内壁的液滴。56°C水浴10min，并不时轻摇样品。

注意：加入Solution GL时可能会产生白色沉淀，一般56°C放置时会消失，不会影响后续实验。如溶液未变清亮，说明细胞裂解

不彻底，可能导致提取DNA量少和提取出的DNA不纯。

5. 加入200 μ l Solution PB，轻轻颠倒混匀样品，室温放置3min。简短离心以去除管盖内壁的液滴。
6. 将上一步所得溶液都加到一个吸附柱中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
7. 向吸附柱中加入500 μ l DNA Wash Buffer（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
8. 重复操作步骤7。
9. 12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2 min，倒掉废液。将吸附柱置于室温放置2-5min，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。
注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。
10. 将吸附柱转入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加20-50 μ l 洗脱缓冲液Elution Buffer，室温放置2-5min，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2min，将溶液收集到离心管中。
注意：洗脱缓冲液体积不应少于20 μ l，体积过小影响回收效率。为增加基因组DNA的得率，可将离心得到的溶液再次加入吸附柱中，室温放置2 min，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2 min。洗脱液的pH值对于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范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20 $^{\circ}$ C，以防DNA降解。

二、从干血点中提取基因组DNA

操作步骤

使用前请先在DNA Wash Buffer中加入无水乙醇（加入体积请参照瓶上的标签）。

1. 取三片3 \times 3 mm的样品到1.5ml的离心管中。
2. 加入180 μ l的Solution AS。
3. 加入20 μ l Proteinase K溶液，轻轻颠倒混匀。56 $^{\circ}$ C孵育1 h，期间每10min涡旋10sec。
4. 加入200 μ l的Solution GL和1 μ l Carrier RNA储存液，浓度为1 μ g/ μ l，轻轻颠倒混匀，70 $^{\circ}$ C孵育10min，期间每3 min涡旋10sec。孵育结束后简短离心以去除管盖内壁的液滴。
注意：加入Solution GL时可能会产生白色沉淀，一般70 $^{\circ}$ C放置时会消失，不会影响后续实验。如溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取DNA量少和提取出的DNA不纯。
5. 加入400 μ l的Solution PB。轻轻颠倒混匀样品，室温放置5min，简短离心以去除管盖内壁的液滴。
6. 将上一步所得溶液都加到一个吸附柱中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
7. 向吸附柱中加入600 μ l DNA Wash Buffer（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
8. 重复操作步骤7。
9. 12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2min，倒掉废液。将吸附柱置于室温放置2-5min，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。
注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。
10. 将吸附柱转入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加20-50 μ l 洗脱缓冲液Elution Buffer，室温放置2-5min，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2min，将溶液收集到离心管中。
注意：洗脱缓冲液体积不应少于20 μ l，体积过小影响回收效率。为增加基因组DNA的得率，可将离心得到的溶液再次加入吸附柱中，室温放置2 min，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2min。洗脱液的pH值对于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范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20 $^{\circ}$ C，以防DNA降解。

三、从血清/血浆中提取循环核酸/游离核酸

操作步骤

使用前请先在DNA Wash Buffer中加入无水乙醇（加入体积请参照瓶上的标签）。

1. 取100 μ l -200 μ l血清/血浆到2ml的离心管中，如不足100 μ l，加Solution AS到100 μ l终体积。
2. 加入20 μ l Proteinase K溶液，涡旋混匀。
3. 加入200 μ l的Solution GL（如血清/血浆体积 \times 50 μ l，可加入1 μ l Carrier RNA储存液，浓度为1 μ g/ μ l），轻轻颠倒混匀，56 $^{\circ}$ C孵育10 min，并不时摇动样品。简短离心以去除管盖内壁的液滴。
注意：加入Solution GL时可能会产生白色沉淀，一般56 $^{\circ}$ C 放置时会消失，不会影响后续实验。如溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取DNA量少和提取出的DNA不纯。
4. 加入400 μ l的Solution PB。如果室温超过25 $^{\circ}$ C，请将乙醇置冰上预冷。轻轻颠倒混匀样品，室温放置5min，简短离心以去除管盖内壁的液滴。
5. 将上一步所得溶液添加到一个吸附柱中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30 sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
6. 向吸附柱中加入600 μ l DNA Wash Buffer（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30 sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
7. 重复操作步骤6。
8. 12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2min，倒掉废液。将吸附柱置于室温放置2-5min，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。
注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。
9. 将吸附柱转入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加20-50 μ l 洗脱缓冲液Elution Buffer，室温放置2-5 min，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2 min，将溶液收集到离心管中。
注意：洗脱缓冲液体积不应少于20 μ l，体积过小影响回收效率。为增加基因组DNA的得率，可将离心得到的溶液再次加入吸附柱中，室温放置2 min，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2 min。洗脱液的pH值对于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范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20 $^{\circ}$ C，以防DNA降解。

四、从漱口水中提取基因组DNA

操作步骤

使用前请先在DNA Wash Buffer中加入无水乙醇（加入体积请参照瓶上的标签）。

1. 在50 ml无菌管中添加10-20ml漱口水样品，800rpm (~1,800 \times g) 离心5min，将上清小心倒掉。
2. 向沉淀中添加200 μ l Solution AS重悬，将全部悬液转移至1.5ml离心管中。
3. 加入20 μ l Proteinase K溶液，涡旋10 sec混匀，56 $^{\circ}$ C放置60min，期间每15min涡旋混匀数次。
4. 加入200 μ l Solution GL 和1 μ l Carrier RNA储存液，浓度为1 μ g/ μ l，充分颠倒混匀，70 $^{\circ}$ C放置10min，期间每3min涡旋10sec。此时溶液应变清亮，简短离心以去除管盖内壁的液滴。
注意：加入Solution GL时可能会产生白色沉淀，一般70 $^{\circ}$ C 放置时会消失，不会影响后续实验。如溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取DNA量少和提取出的DNA不纯。
5. 加400 μ l Solution PB，充分颠倒混匀，简短离心以去除管盖内壁的液滴。
注意：加入无水乙醇后可能会出现絮状沉淀，但不影响DNA提取。
6. 将上一步所得溶液和絮状沉淀加入一个吸附柱中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
7. 向吸附柱中加入600 μ l DNA Wash Buffer（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30 sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
8. 重复操作步骤7。
9. 12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2min，倒掉废液。将吸附柱置于室温放置2-5min，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。
注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。

10. 将吸附柱转入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加20-50 μ l 洗脱缓冲液Elution Buffer，室温放置2-5min，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2min，将溶液收集到离心管中。

注意：洗脱缓冲液体积不应少于20 μ l，体积过小影响回收效率。为增加基因组DNA的得率，可将离心得到的溶液再次加入吸附柱中，室温放置2min，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2 min。洗脱液的pH值对于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范围内(可以用NaOH将水的pH值调到此范围)，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20 $^{\circ}$ C，以防DNA降解。

五、从毛囊中提取基因组DNA

操作步骤

使用前请先在DNA Wash Buffer中加入无水乙醇（加入体积请参照瓶上的标签）。请提前准备1M DTT溶液。

1. 材料处理：含毛囊的毛发：在1.5 ml离心管中加入250 μ l Solution AS，20 μ l Proteinase K，20 μ l DTT，混匀。从毛发根部毛囊处取1cm长的一段，与上述溶液涡旋混匀10sec。

2. 在56 $^{\circ}$ C孵育直到样本充分降解消化。需要时间至少60min，期间每隔20min涡旋10sec混匀；或者置于水浴振荡仪中消化。简短离心以收集附着在管壁及管盖的液体。

注意：裂解时间根据样本不同有所差异，一般毛发需要1h；过夜消化也可，且过夜消化对整个实验没有太大影响。羽茎样本不会完全消化，对于未消化完全的羽茎样本，可以直接离心，取上清液进行后续实验。

3. 添加300 μ l Solution GL和1 μ l Carrier RNA储存液，浓度为1 μ g/ μ l，充分混匀。

4. 56 $^{\circ}$ C水浴10min，期间每3min涡旋混匀10sec。

5. 添加600 μ l Solution PB，充分涡旋混匀。简短离心以去除管盖内壁的液滴。

6. 将上一步所得溶液和絮状沉淀分两次加入一个吸附柱中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。

7. 向吸附柱中加入600 μ l DNA Wash Buffer（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。

8. 重复操作步骤7。

9. 12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2min，倒掉废液。将吸附柱置于室温放置2-5min，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。

10. 将吸附柱转入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加20-50 μ l 洗脱缓冲液Elution Buffer，室温放置2-5min，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2 min，将溶液收集到离心管中。

注意：洗脱缓冲液体积不应少于20 μ l，体积过小影响回收效率。为增加基因组DNA的得率，可将离心得到的溶液再次加入吸附柱中，室温放置2min，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2min。洗脱液的pH值对于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范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20 $^{\circ}$ C，以防DNA降解。

六、从微量组织中提取基因组DNA

操作步骤

使用前请先在DNA Wash Buffer中加入无水乙醇（加入体积请参照瓶上的标签）。

1. 取不超过10mg的组织到1.5 ml的离心管中，立即加入180 μ l Solution AS，室温放置，使离心管温度平衡到室温。

2. 加入20 μ l Proteinase K溶液，涡旋混匀10sec。

3. 在56 $^{\circ}$ C孵育直到样本充分降解消化，需要时间大约30min到1h，期间每15min需要涡旋混匀；或者置于水浴振荡仪中消化。简短离心以收集附着在管壁及管盖的液体。

4. 加入200 μ l的Solution GL和1 μ l Carrier RNA储存液，浓度为1 μ g/ μ l，充分颠倒混匀，70 $^{\circ}$ C放置10min，期间每3min涡旋混匀10sec，溶液应变清亮，简短离心以去除管盖内壁的液滴。

- 加入400 μ l的Solution PB。轻轻颠倒混匀样品，室温放置5 min，简短离心以去除管盖内壁的液滴。
- 取上一步所得溶液全部转入吸附柱中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
- 向吸附柱中加入600 μ l DNA Wash Buffer（使用前请先检查是否已加入无水乙醇）12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
- 重复操作步骤7。
- 12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2min，倒掉废液。将吸附柱置于室温放置2-5min，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。
注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。
- 将吸附柱转入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加20-50 μ l 洗脱缓冲液Elution Buffer，室温放置2-5min，12,000rpm(~13,400 \times g)离心2min，将溶液收集到离心管中。
注意：洗脱缓冲液体积不应少于20 μ l，体积过小影响回收效率。为增加基因组DNA的得率，可将离心得到的溶液再次加入吸附柱中，室温放置2 min，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2 min。洗脱液的pH值对于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范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20 $^{\circ}$ C，以防DNA降解。

七、从微切割样品中提取基因组DNA（包括福尔马林固定的微切割样品）

操作步骤

使用前请先在DNA Wash Buffer中加入无水乙醇（加入体积请参照瓶上的标签）。

- 加入15 μ l Solution AS到0.2 ml离心管中，放入微切割样品。
- 加入10 μ l Proteinase K溶液，涡旋混匀10 sec。
- 56 $^{\circ}$ C孵育3h使样本充分降解消化。若福尔马林样品需要孵育16h，期间隔段时间需要涡旋混匀；或者置于水浴振荡仪中消化。简短离心以收集附着在管壁及管盖的液体。
- 加入25 μ l Solution AS，混匀。再加入50 μ l Solution GL和1 μ l Carrier RNA储存液，浓度为1 μ g/ μ l，涡旋混匀10sec，简短离心以去除管盖内壁的液滴。
- 加入100 μ l的Solution PB。轻轻颠倒混匀样品，室温放置5min，简短离心以去除管盖内壁的液滴。
- 取上一步所得溶液添加到一个吸附柱中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
- 向吸附柱中加入600 μ l DNA Wash Buffer（使用前请先检查是否已加入无水乙醇）12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
- 重复操作步骤7。
- 12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2 min，倒掉废液。将吸附柱置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。
注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。
- 将吸附柱转入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加20-50 μ l 洗脱缓冲液Elution Buffer，室温放置2-5min，12,000 rpm(~13,400 \times g)离心2min，将溶液收集到离心管中。
注意：洗脱缓冲液体积不应少于20 μ l，体积过小影响回收效率。为增加基因组DNA的得率，可将离心得到的溶液再次加入吸附柱中，室温放置2min，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2min。洗脱液的pH值对于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范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20 $^{\circ}$ C，以防DNA降解。

储存条件

该试剂盒置于室温（15-25 $^{\circ}$ C）干燥条件下，可保存12个月，更长时间的保存可置于2-8 $^{\circ}$ C。2-8 $^{\circ}$ C保存条件下，若溶液产生沉淀，使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间，必要时可在37 $^{\circ}$ C水浴中预热10min，以溶解沉淀。Carrier RNA置于-20 $^{\circ}$ C。

仅供科学研究，不得用于临床治疗