**For Research Use Only. Not For Use In Diagnostic Procedures**

USER GUIDE **MesGen Biotechnology**

**Version 2.0**

|  |
| --- |
| **动物组织/细胞基因组DNA小量提取试剂盒** |

**Animal Tissue & Cell Genomic Miniprep Kit**

**Cat.No. MAG2460 Lot.No. see external packing**

**Technical literature is available at:** [**www.mesgenbio.com**](http://www.mesgenbio.com)**. E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system:** [**tech@mesgenbio.com**](mailto:tech@mesgenbio.com)

**产品简介**

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统，提取多种细胞中的基因组DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，高效、专一吸附DNA，可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组DNA片段大，纯度高，质量稳定可靠。使用本试剂盒回收的DNA可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、文库构建、Southern杂交等实验。

**产品特点**

* 简单快速：1 h内即可获得超纯的基因组DNA。
* 应用广泛：适用于血液、多种动物细胞和动物组织等。

※ 产物纯度高：获得的DNA纯度高，可直接用于PCR、酶切、杂交等分子生物学实验。

**产品包装**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **组分** | **50 tests** | **100 tests** | **250 tests** |
| **Solution BE** | 5 mL | 10 mL | 25 mL |
| **Solution CL** | 12.5 mL | 25 mL | 62.5 mL |
| **Solution PB** | 25 mL | 50 mL | 125 mL |
| **DNA Wash Buffer** | 12 mL | 24 mL | 60 mL |
| **Elution Buffer** | 10 mL | 20 mL | 50 mL |
| **RNase A** | 200 μl | 400 μl | 1000 μl |
| **Proteinase K** | 1000 μl | 2×1000 μl | 5×1000 μl |

****

RUO

Made in China

**操作方法**

1. 处理材料

a. 贴壁培养的细胞应先处理为细胞悬液，然后10000 rpm(~11,200×g)离心1 min，倒尽上清，加200 μl **Solution BE**，振荡至彻底悬浮；

b. 动物组织（脾组织用量应少10 mg）应先打碎处理为细胞悬液，然后10000 rpm(~11,200×g)离心1 min，倒尽上清，加200 μl **Solution BE**，振荡至彻底悬浮。注意：如果需要去除RNA，可加入4 μl **RNase A**，振荡15 sec，室温放置5 min。

2. 加入20 μl **Proteinase K**，混匀；

a. 提取细胞基因组时，只需加入**Proteinase K**混匀，即可继续进行下一步；

b. 提取组织基因组时，加入**Proteinase K**混匀后，在56℃放置，直至组织溶解，简短离心以去除管盖内壁的水珠，再进行下一步骤；

注意：不同组织裂解时间不同，通常需1-3 h即可完成（鼠尾需要消化过夜）。不会影响后续操作。每小时颠倒混合样品2-3次，用水浴振荡器也可。

3. 加入250 μl **Solution CL**，充分颠倒混匀，65℃放置10-20 min，溶液应变清亮，简短离心以去除管盖内壁的水珠；注意：加入Solution CL时可能会产生白色沉淀，一般65℃放置时会消失，不影响后续实验。如溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取DNA量少和提取的DNA不纯；

4. 12000 rpm离心2 min，取上清转移到新的离心管中，加入500 μl **Solution PB**，充分混匀，将溶液加入吸附柱中，也可以分次加入柱中；

5. 12000 rpm离心1 min，弃废液，将吸附柱放入收集管中；

6. 向吸附柱中加入500 μl **DNA Wash Buffer**（使用前请先检查是否已加入规定体积的无水乙醇），12000 rpm离心1 min，弃废液，将吸附柱放入收集管中；

7. 向吸附柱中加入500 μl **DNA Wash Buffer**，12000 rpm离心1 min，弃废液，将吸附柱放入收集管中；

8. 12000 rpm离心2 min，将吸附柱置于室温或50℃温箱放置数分钟，目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，否则漂洗液中的乙醇会影响后续的实验如酶切、PCR等；

9. 将吸附柱放入一个干净的离心管中，向吸附膜中央悬空滴加50-200 μl经65℃水浴预热的**Elution Buffer**，室温放置5 min，12000 rpm离心1 min；

10. 离心所得洗脱液再加入吸附柱中，室温放置2 min，12000 rpm离心2 min，即可得到高质量的基因组DNA；

**注意事项**

1. 洗脱缓冲液的体积最好不少于50ul，体积过小会影响回收效率；洗脱液的pH值对洗脱效率也有影响，若需要用水做洗脱液应保证其pH值在8.0左右(可用NaOH将水的pH值调至此范围)，pH值低于7.0会降低洗脱效率；DNA产物应保存在-20℃，以防DNA降解。

2. DNA浓度及纯度检测：得到的基因组DNA片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。回收得到的DNA片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。DNA应在OD260处有显著吸收峰，OD260值为1相当于大约50 μg/ml双链DNA、40 μg/ml单链DNA。OD260/OD280比值应为1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用去离子水，比值会偏低，因为pH值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。

**保存条件**

**RNase A**，**Proteinase K**置于-20℃；

其余组成室温保存；

**Solution CL**中若有沉淀，可在65℃水浴中重新溶解，不影响试剂盒正常使用。

**产品仅供科学研究，不得用于临床诊断、治疗**

**For Research Use Only. Not For Use In Diagnostic Procedures.**