

Contact mouse : mouse@macrogen.com
Payment Inquiry: payment@macrogen.com
Technical Support Macrogen Korea: support@macrogen.com
Macrogen-Europe: support-europe@macrogen.com

Update 161205



Genetically
Engineered
Mouse

GEMouse

Transgenic mouse Production Guide

Purification of DNA for Microinjection

Purification of DNA for Microinjection

microinjection 할 DNA fragment가 잘려져 나오도록 적절한 제한효소로 DNA vector를 digestion 한 후 이를 agarose gel 에 전기영동 하여 DNA를 정제한다. 이 과정은 integration rate에 영향이 크므로 일반적으로 다음 사항들을 고려한다.

- ✓ Linear DNA fragments는 supercoiled DNA보다 integration 효율이 높다.
- ✓ microinjection buffer는 ionic strength가 낮아야 한다.
(10mM Tris (pH7.4), 0.1mM EDTA (pH 8.0))
- ✓ blunt end의 liner DNA fragment가 chromosomal integration 효율이 가장 낮다.
- ✓ 삽입할 유전자를 핵에 injection하는 것이 세포질 injection보다 상당히 효율적이다.

적당한 제한효소로 자른 vector는 전기영동을 통해 분리한 후, electroelution-> DEAE-Sephacel (e.g., Elutip D, S&S , Keene, NH)이나 glass bead adsorption(e.g., GeneClean II, AioGene, Inc., QIAEXII) 방식으로 desalting 및 concentration한다. ethidium bromide gel상에서 알고 있는 농도 size를 기준으로 정량 하는 방법을 이용하여 DNA를 정량하고 ~4ng/ul의 농도로 microinjection buffer에 녹여 준비한다.