

深加工食品 DNA 提取试剂盒说明书

产品组成

深加工食品 DNA 提取试剂盒 Cat. No.	5 次制备 3110005	50 次制备 3110050
核酸纯化柱	5 个	50 个
2 ml 离心管	5 个	50 个
蛋白酶 K 贮存液	120 μ l	1.2 ml
Carrier RNA	30 μ l	300 μ l
Buffer PD	6 ml	60 ml
Buffer EX	3 ml	30 ml
Buffer P1	8.4 ml	84 ml
Buffer WB（浓缩液）	1.2 ml	12 ml
Buffer TE	0.6 ml	6 ml
说明书	1 份	1 份

产品储存

蛋白酶 K 贮存液和 Carrier RNA 可常温（0~30℃）运输，收到后请置于 - 20℃ 储存，其他试剂与物品储存于常温（0~30℃），可在两年内保持使用性能无明显变化。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：电话：400-0099-857，QQ: 869912443，微信公众号：simgenbio，e-mail: technical@simgen.cn。

产品介绍

本产品适用于从各种生食和加工食品中快速纯化 DNA，同时最大限度地减少复杂食品样品固有的 PCR 抑制剂的残留，便于聚合酶链式反应（PCR）检测，能够快速可靠地检测食品、动物饲料或药品中的各种病原体、转基因生物以及动植物组分。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 1.5 ml 离心管、2 ml 离心管、移液器及吸头
3. 一次性手套及防护用品和纸巾
4. 台式离心机（可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）
5. 水浴锅和旋涡振荡器
6. 可能需要 0.1 M Tris-HCl（pH 8.0），50 ml 离心管及配套离心机
7. 可能需要负压装置（Simgen Cat. No. A-100）
8. 针对易膨胀的样品（如淀粉），Buffer PD 可能会不够用，可单独购买

使用前准备

1. 将水浴锅温度设置到 60℃，将 Buffer PD 温育至 60℃。
2. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WB 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾做好“乙醇已加”的标记。

操作步骤

酱油预处理：在 50 ml 离心管中加入 15 ml 酱油，再加入 30 ml 无水乙醇，混合均匀后置于 -20℃冰箱 10 分钟，10000 rpm 离心 10 分钟，弃上清。重复一次收集共 30 ml 的酱油沉淀物。在沉淀中加入 30 ml 0.1 M Tris-HCl (pH 8.0)，用力摇匀，旋涡振荡至无明显块状沉淀，10000 rpm 离心 10 分钟，弃上清。重复洗涤沉淀一次。按照每≤500 mg 沉淀加入 1 ml Buffer PD 和 20 μl 蛋白酶 K 贮存液的比例进行操作。

1. 称取 200 mg 研碎的样品到 2 ml 离心管（用户自备）中，加入 1 ml 60℃预热的 Buffer PD 和 20 μl 蛋白酶 K 贮存液，旋涡振荡至样品完全混合均匀且湿润。

- * 对于易膨胀的样品（如淀粉），Buffer PD 的用量需增加至 1.7~1.8 ml，以确保后续能吸取到足够的上清液。
- * 为了提高 DNA 产量，可在本步骤准备 3~4 个离心管，对同一个样品进行多管提取，在步骤 3 将这些离心管的上清液合并混匀，每 700 μl 上清混合液转移到新的 1.5 ml 离心管中，进入步骤 4 操作，并在步骤 6 中分多次将所有混合液滤过同一核酸纯化柱。

2. 在 60℃下孵育 30 分钟，期间每隔 5~10 分钟翻转离心管数次以帮助 DNA 的释放。

3. 冰浴 5 分钟，6000 rpm 离心 5 分钟，小心吸取 700 μl 上清液转移至新的 1.5 ml 离心管中。

- * 上清液可能有颜色，并不会对后续提取造成影响；如果上清液不透明，则再离心 5 分钟。
- * 某些样品在离心后也可能形成三层。如果发生这种情况，请用吸头穿过上层，仅转移透明中间相（例如巧克力样品的上层会形成半固体薄膜，用吸头穿过薄膜仅转移透明的中间相即可）。

4. 加入 500 μl Buffer EX，盖上管盖，剧烈摇晃混匀至乳浊液状，13000 rpm 离心 15 分钟。

5. 小心吸取 350 μl 上清液转移到新的 2 ml 离心管（用户自备）中，加入 350 μl Buffer P1 和 5 μl Carrier RNA，盖上管盖，上下颠倒混合均匀。

- * 对于加工方式较复杂的食品（例如经过高温、高压、巴氏消毒、辐照、pH 值变化或干燥等处理），样品中的 DNA 碎片化比较严重、片段较小，此时上清液：Buffer P1 的比例应增大到 1:4（例如 350 μl 的上清液，应加入 1400 μl 的 Buffer P1），Carrier RNA 用量不变，并在后续步骤 6 中分 3 次将混合液滤过核酸纯化柱。
- * 为了提高 DNA 产量，可将步骤 4 中的离心上清液全部吸取，按上清液：Buffer P1 = 1:1（长片段）或 1:4（短片段）的比例添加 Buffer P1，Carrier RNA 用量不变，并在后续步骤 6 中分多次将混合液滤过核酸纯化柱。

6. 将步骤 5 中的混合液转移至核酸纯化柱中（核酸纯化柱置于 2 ml 离心管中），12000 rpm 离心 30 秒，弃滤液。

- * 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将 2 ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。
- * 对于混合液体积过大需要多次过柱的情况，推荐使用负压装置，可简化操作，缩短实验时间。

7. 将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，加入 700 μl Buffer WB，12000 rpm 离心 30 秒，弃滤液。

- * 确认在 Buffer WB 中已经加入无水乙醇。

8. 将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，14000 rpm 离心 1 分钟。

- * 如果离心机的离心速度达不到 14000 rpm，则用最高速离心 2 分钟。
- * 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的 PCR 效果。

9. 弃 2 ml 离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的 1.5 ml 离心管中，在纯化柱的膜中央加入 50~100 μl Buffer TE，盖上管盖，室温静置 1 分钟，12000 rpm 离心 30 秒洗脱 DNA。

- * 将 DNA 置于 -20℃以下保存。