

## 德国 ifp 公司 PCRFast®食物 DNA 提取试剂盒

### IF/EK1006

#### 1. 产品简介

食物 DNA 提取试剂盒可以快速并有效地从食物原料中抽提 DNA。50 次/盒。

一般情况下，运用此种提取方法得到的 DNA 可以直接应用于接下来的 PCR 反应。

#### 包含内容

- 1 裂解缓冲液 C (550 ml)
- 1 糖原 (200ul)
- 1 蛋白酶 K (25 mg, 冻干粉)
- 1 蛋白酶 K 缓冲液 C(1.5 ml)
- 1 结合缓冲液 P
- 1 冲洗缓冲液 P
- 1 洗脱缓冲液 P
- 50 PCRFast®吸附柱
- 100 PCRFast®收集柱

#### 2. 必需而未提供的设备和试剂

旋涡仪

可在 60°C 下用的摇床

大于 14,000 x g 的高速离心机 (用 2.0 ml 反应管)

离心机, 2,700×g/min (用 50ml 离心管)

微量移液器和吸头 (2-20 μl, 20-200 μl, 100-1000 μl), 如: Gilson Pipetman P

氯仿或 ReadyRed (Q-Biogene)

纯异丙醇

70%乙醇

0.1×TE (Tris 1 mmol/l, EDTA 0.1 mmol/l)

50 ml 螺口离心管

2.0 ml 反应管 (氯仿耐受)

#### 3. 警告

- (1) 所有工作都应在具常规防护措施的实验室操作。
- (2) 为了避免交叉污染，做所有工作时都应戴手套，并在实验室内配备过滤设备。
- (3) 样品准备，PCR 准备和检测应在一个独立房间内进行。

#### 4. 储存方法

该 DNA 提取试剂盒可在室温 (最大 28 °C) 保存至少一年。

#### 5. DNA 抽提

##### 6.1 预准备阶段

- (1) 预热摇床到 60 °C。

中国区独家代理:

北京祥龙环宇生物技术有限公司

[www.bioxlhy.com](http://www.bioxlhy.com)

电话 010-65567512 传真 010-85763341 [huanyu1979@126.com](mailto:huanyu1979@126.com) [info@bioxlhy.com](mailto:info@bioxlhy.com)

- (2) 用提供的 1.5 ml 蛋白酶 K 缓冲液 C 重悬冻干粉状的蛋白酶 K (重悬后, 4 °C 保存 6 个月, 长期保存, 请放于 -20 °C)
- (3) 在首次使用裂解缓冲液 C 和沉淀溶液 C 前, 放于 60°C 预热 30 分钟。
- (4) 此后, 溶液冷却至室温, 并且放于室温保存 (最大 28°C)

## 6.2 操作过程

### 6.2.1 DNA 抽提

每个抽提系列中要保留一个不含样品的试剂对照来进行 ETC 抽提控制。

每个样品做两个重复试验。这个记录可以作为试验准备的一部分参考。

(1) 准确称取 2 g 均匀的样品放入 50 ml 离心管中, 加入 10 ml 裂解缓冲液 C 和 25  $\mu$ l 蛋白酶 K 溶液; 然后剧烈震荡 (确保混匀样品材料)。

注意: 对于易吸水的样品材料 (如: 淀粉), 精确称量 2 g 均匀的样品放入 50 ml 离心管中, 再加入 20 ml 裂解缓冲液 C 和 25  $\mu$ l 蛋白酶 K 溶液 (见 6.1); 然后剧烈震荡 (确保混匀样品材料)。

对于特殊的同质样品 (如鱼片等) 称取 200 mg 样品放入一个 2 ml 反应管中, 加入 1 ml 裂解缓冲液 C 和 25  $\mu$ l 蛋白酶 K 溶液; 然后剧烈震荡。

- (2) 将离心管放于 60°C 的摇床上诱导, 90 分钟 (或过夜); 接着冷却至室温 (低于 30°C)
- (3) 离心, 不低于 2,500 $\times$ g, 5 分钟
- (4) 吸取 500  $\mu$ l 氯仿 (或 ReadyRed) 到 2.0 ml 反应管中, 加入 700  $\mu$ l (3) 中的上清液, 剧烈涡旋 15 秒。
- (5) 离心, 不低于 14,000 $\times$ g, 10 分钟 (若上清液没有变清亮, 再离心 5 分钟)。
- (6) 吸取 500  $\mu$ l 纯异丙醇加入到一个 2.0 ml 反应管中, 加入 500  $\mu$ l (5) 中上清液; 对低含量 DNA 样品: 吸取 2  $\mu$ l 糖原溶液 (20 mg/ml) 加到反应管盖子里面, 盖上盖子, 震荡。
- (7) 室温诱导 30 分钟。
- (8) 离心, 不低于 14,000 $\times$ g, 15 分钟。
- (9) 用移液器轻轻地移去上清液 (注意: 样品 DNA 含量低, 沉淀可能看不到, 仍旧移去上清液), 加入 500  $\mu$ l 乙醇 (70%), 震荡。
- (10) 离心, 不低于 14,000 $\times$ g, 5 分钟。
- (11) 用移液器轻轻地移去上清液, 简短再离心一下 (不低于 14,000 $\times$ g, 15 秒), 再用移液器把残留的乙醇移去, 50 °C 15 分钟, 干燥沉淀 (或室温 1 小时) 以蒸发掉残留的乙醇。
- (12) 通过涡旋, 用 100  $\mu$ l 吸收缓冲液 C 溶解沉淀; 对于难溶的沉淀, 使用超声波重悬, 或者 4 °C 过夜, 然后涡旋。
- (13) 将 PCRFast® 吸附提取柱放入 PCRFast® 收集管中。
- (14) 添加 200  $\mu$ l 结合缓冲液 P 到 100  $\mu$ l DNA 溶液中, 涡旋 15 秒。
- (15) 将 (12) 中的溶液加入 PCRFast® 提取柱中。
- (16) 11,000 $\times$ g 离心, 1 分钟, 弃去液体。
- (17) 添加 600  $\mu$ l 冲洗缓冲液 P。
- (18) 11,000 $\times$ g 离心, 1 分钟, 弃去液体。
- (19) 11,000 $\times$ g 离心, 2 分钟 (除去残留的冲洗缓冲液 P)。
- (20) 将提取柱放入新的 PCRFast® 收集管中, 干燥器中 37 °C, 打开盖子, 干燥 10 分钟。
- (21) 添加 100  $\mu$ l 洗脱缓冲液 P 到提取柱中, 室温放置 1 分钟。
- (22) 11,000 $\times$ g 离心, 1 分钟 (DNA 洗脱到 PCRFast® 收集管中)。

中国区独家代理:

北京祥龙环宇生物技术有限公司

[www.bioxlhy.com](http://www.bioxlhy.com)

电话 010-65567512 传真 010-85763341 [huanyu1979@126.com](mailto:huanyu1979@126.com) [info@bioxlhy.com](mailto:info@bioxlhy.com)

(23) 用 12.5 ul 直接或者是相应的稀释液配合 PCRFast®检测试剂盒进行分析。

注意:

(1) 实验中, 总的 DNA 含量不应多于 100ng (用紫外分析仪在 260nm 检测, 或者用琼脂糖凝胶估计)

(2) 实验显示, 高含量 DNA 的样品中的 DNA 提取物 (大豆粉, 玉米粉, 香肠样品等等), 需溶解在 0.1×TE 缓冲液中。

(3) 具抑制作用的 DNA 提取物 (含可可因的食物原料、巧克力等等) 也需要溶解在 0.1×TE 缓冲液中。

中国区独家代理:

北京祥龙环宇生物技术有限公司

[www.bioxlhy.com](http://www.bioxlhy.com)

电话 010-65567512 传真 010-85763341 [huanyu1979@126.com](mailto:huanyu1979@126.com) [info@bioxlhy.com](mailto:info@bioxlhy.com)