

Food DNA Extraction Mini Kit

食品 DNA 小量提取试剂盒

本产品适合于从各种深加工食品及饲料中提取 DNA。试剂盒基于硅胶柱纯化技术，提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需进行耗时的醇类沉淀。得到的 DNA 可直接用于 PCR, Southern Blot, 病毒 DNA 检测等实验。

产品组份

产品编号	DNF327-01	DNF327-02	DNF327-03
纯化次数	10 次	50 次	250 次
gDNA Extraction Mini Columns	10	50	250
2ml Collection Tubes	10	50	250
Buffer TL	7 ml	30 ml	160 ml
Buffer IRP	2.5 ml	12 ml	55 ml
Buffer GT	7 ml	30 ml	160 ml
Buffer W1A	4.4 ml	13 ml	66 ml
Buffer W2A	5 ml	20 ml	2×40 ml
Proteinase K	220μl	1.1 ml	5.5 ml
Buffer EB	1.5 ml	10 ml	60 ml

保存条件

本产品可在室温(15~25°C)保存 12 个月,长期保存时需置于 2-8°C。低温下, Buffer TL 可能会有沉淀形成, 需 37°C 水浴让沉淀完全溶解。

准备事项

- 水浴锅
- Buffer W1A 使用前, 须按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。
- Buffer W2A 使用前, 须按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。

实验步骤

样品前处理

1. 取 30~50mg 研磨粉碎的食品样品至 2ml 离心管中, 加入 500 μ l Buffer TL, 20 μ l Proteinase K, 充分涡旋混匀, 65°C 振荡温浴 30~60 分钟。
若无振荡混匀, 温浴过程颠倒混匀至少 5 次。
2. 恢复至室温, 加入 180 μ l Buffer IRP 至消化液中, 涡旋混匀 15 秒直至溶液均一, 4°C 或冰上放置 5 分钟。
3. 13,000 \times g 离心 5 分钟, 转移 400~500 μ l 上清液至新的离心管中。
4. 加入 500 μ l Buffer GT, 涡旋混匀 15 秒, 室温放置 5 分钟。(若需要获得最大产量, 可额外加入 500 μ l 无水乙醇, 涡旋混匀 15 秒。)

过柱纯化

1. 把 gDNA Extraction Mini Columns 装在 2ml 收集管中。转移上一步获得的混合液(包括沉淀)至柱子中。13,000 x g 离心 1 分钟。
若柱子出现堵塞, 14,000 x g 离心 3~5 分钟。若混合液超过 750 μ l, 分次过柱。
2. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer W1A 至柱子中。13,000 x g 离心 10 秒。
3. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 600 μ l Buffer W2A 至柱子中。13,000 x g 离心 10 秒。

4. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 600 μ l Buffer W2A 至柱子中。13,000 x g 离心 10 秒。

5. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。13,000 \times g 离心 2 分钟。

该步骤去除 DNA 柱中残留的乙醇，乙醇残留会影响后续的酶促反应。当洗脱体积低于 50 μ l 时，该步骤结束后应打开 DNA 柱盖子于室温空气干燥 10 分钟后再进行洗脱，避免乙醇残留对酶促反应的影响。

6. 将柱子装在新的 1.5ml 离心管中。加入 30~100 μ l 预热至 65 $^{\circ}$ C 的 Buffer EB 至柱子的膜中央。放置 3 分钟。13,000 \times g 离心 1 分钟。

柱子最小的洗脱体积是 30 μ l，若对产量要求较高，推荐进行第二次洗脱，将洗脱液重新加至柱子膜中央，室温静置 3 分钟，13,000 \times g 离心 1 分钟。

7. 丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存 2-8 $^{\circ}$ C，长期保存需放置于-20 $^{\circ}$ C。

常见问题

1. 柱子堵塞

- **样品用量太多:** 减少样品量,控制在 30mg 左右。
- **样品消化不充分:** 用液氮或玻璃匀浆器对样品进行研磨和匀浆,提高样品的消化效果。
- **样品裂解不充分:** 样品与 Buffer GT 混匀不充分。加入 Buffer GT 后先颠倒混匀 3~5 次,然后以最高速度涡旋让样品与 Buffer GT 充分混匀。

2. DNA 产量低

- **样品消化不充分:** 延长消化时间让样品充分消化,用玻璃匀浆器对样品进行匀浆。
- Buffer W1A/W2A 没有加入乙醇稀释。
- 加入乙醇后有沉淀析出时,用移液枪吸打几次打散沉淀有利于提高产量。
- **洗脱不充分:** 洗脱液需加到膜中央,增加洗脱体积或次数。
- 加入 Buffer GT 后可加入乙醇提高产量。