

## 德国 IFP 深加工食品 DNA 快速提取试剂盒

货号: EK1006

### 1. 产品描述

PCRFast®深加工食品 DNA 快速提取试剂盒是专为从深加工食品中快速有效提取 DNA 设计的。在大多数情况下, 通过试剂盒获得的 DNA 可以直接用于随后的 PCR 扩增。

### 2. 产品内容

- 1 裂解缓冲液 C (550mL)
- 1 糖原 (200  $\mu$  L)
- 1 蛋白酶 K(25mg, 冻干的)
- 1 蛋白酶 K 缓冲液 C (1.5 mL)
- 1 结合缓冲液 P
- 1 洗涤缓冲液 P
- 1 洗脱缓冲液 P
- 50 PCRFast®收集柱
- 100 PCRFast®收集管

### 3. 需要的仪器和试剂

- 涡旋器
- 振荡孵育器, 60°C (140°F)
- 离心机, 14, 000 $\times$ g(适用于 2.0 mL 反应管)
- 离心机, 2, 700 $\times$ g (适用于 50 mL 反应管)
- 微量移液器(枪)和带滤芯枪(吸)头,(型号 2-20  $\mu$  L, 20-200  $\mu$  L, 100-1,000  $\mu$  L)
- 氯仿 (三氯甲烷)
- 异丙醇 (100%)
- 70%变性乙醇
- 0.1 $\times$ TE 缓冲液(Tris 1mmol/L, EDTA 0.1mmol/L)
- 具刻度的 50 mL 有盖离心管
- 反应管 (耐氯仿), 2.0 mL

## 注意事项

遵守实验室的一般注意事项

避免随身携带，操作时带手套，用带滤芯枪头

样品制备，PCR 扩增，检测应在不同的区域

## 4. 储存说明

可室温（最高 28°C 或 82.4°F）储存一年

## 5. DNA 提取

### 6.1 准备步骤

预热振荡孵育器到 60°C（140°F）

用 1.5mL 蛋白酶 K 缓冲液 C 重悬蛋白酶 K，这个溶液可以在 4°C（39.2°F）下保存 6 个月，也可以将溶液分装后 -20°C（-4°F）储存

裂解缓冲液 C 易沉淀，在第一次使用裂解缓冲液 C 之前，应 60°C（140°F）预热半个小时

预热后溶液可以室温下储存（最高 28°C（82.4°F））

### 6.2 操作步骤

#### 6.2.1 DNA 提取

每一组提取都应包括一个无样品材料只有试剂的 ETC 提取对照

每一个样品应做两次重复

- (1) 精确称取 2g 均质样品，再将其转移至 50mL 离心管，加入 10mL 裂解缓冲液 C 和 25  $\mu$ L 蛋白酶 K 溶液，然后，剧烈振荡以保证样品和裂解缓冲液充分接触

备注：对于高度溶胀的样品，如淀粉，精确称取 2g 的样品，转移至 50mL 离心管，加入 20mL 裂解缓冲液 C 和 25  $\mu$ L 蛋白酶 K 溶液，然后，剧烈振荡以保证样品和溶液充分接触

对于进行种类鉴定的均质样品(如肉片)，称取 200mg 样品转移入 2 mL 反应管，加入 1mL 裂解缓冲液 C 和 25  $\mu$ L 蛋白酶 K 溶液，剧烈振荡。

- (2) 60°C（140°F）孵育 90 分钟（或者过夜），并不时振荡，再冷却至室温（<30°C（86°F））
- (3) 不低于 2,500 $\times$ g 离心 5 分钟
- (4) 移取 500  $\mu$ L 氯仿至 2.0mL 耐氯仿反应管，再加入 700  $\mu$ L 步骤 3 中的

上清液，剧烈涡旋 15 秒

- (5) 不低于  $14,000\times g$  离心 15 分钟（如果上清液混浊，再离心 5 分钟）
- (6) 移取  $500\ \mu\text{L}$  100%异丙醇至 2.0 mL 反应管，再加入  $500\ \mu\text{L}$  步骤 5 中的上清液；对于低-DNA 样品：另外移取  $2\ \mu\text{L}$  糖原溶液（20mg/mL）至反应管的盖子上，合上盖子，振荡。
- (7) 室温孵育 30 分钟
- (8) 不低于  $14,000\times g$  离心 15 分钟
- (9) 小心移出上清液（含异丙醇），丢弃不用，注意不要接触试管底部的絮状团（含 DNA）（备注：提取低-DNA 样品时可能会看不见絮状团，不必在意，请继续洗涤步骤，但在离心时注意反应管放置方向），向上清液中加入  $500\ \mu\text{L}$  70%乙醇，振荡
- (10) 不低于  $14,000\times g$  离心 15 分钟
- (11) 小心移取上清液（含乙醇）， $14,000\times g$  离心 15 秒，用移液枪小心移出絮状团周围残存的乙醇， $55^{\circ}\text{C}$ （ $122^{\circ}\text{F}$ ）干燥絮状团，或室温下干燥一个小时，使残余的乙醇挥发
- (12) 加入  $100\ \mu\text{L}$   $0.1\times\text{TE}$  缓冲液并涡旋以重悬絮状团，对于难溶的絮状团，可以使用超声波浴或者  $4^{\circ}\text{C}$  放置过夜，再涡旋
- (13) 将 PCRFast®收集柱放入 PCRFast®收集管中
- (14) 加入  $200\ \mu\text{L}$  结合缓冲液 P 至  $100\ \mu\text{L}$  DNA 溶液中，并涡旋 15 秒
- (15) 转移步骤（14）中的所有溶液至 PCRFast®收集柱内
- (16)  $11,000\times g$  离心 1 分钟，离心后将收集管内的液体倒掉
- (17) 向收集柱内加  $600\ \mu\text{L}$  洗涤缓冲液 P
- (18)  $11,000\times g$  离心 1 分钟，离心后将收集管内的液体倒掉
- (19)  $11,000\times g$  离心 2 分钟，以去除残留的洗涤缓冲液 P
- (20) 将收集柱放入一个新的收集管中，打开盖子，放入恒温培养箱， $37^{\circ}\text{C}$ （ $98.6^{\circ}\text{F}$ ）干燥 1 个小时
- (21) 加入  $100\ \mu\text{L}$  洗脱缓冲液 P 至收集柱内，室温放置 1 分钟
- (22)  $11,000\times g$  离心 1 分钟（离心后收集管内的液体为最终提取得到的高纯度 DNA）
- (23) 直接移取  $12.5\ \mu\text{L}$  或稀释后直接应用于 PCRFast®检测试剂盒

备注：用于分析检测的总 DNA 应不超过 100ng（可用 260nmUV(紫外)检测或琼脂糖电泳检测）

经验说明含高 DNA 的样品如（大豆粉，玉米粉，香肠等）应用 0.1×TE 缓冲液稀释 DNA 提取物

含有抑制因子的 DNA 提取物（含有可可粉，巧克力的食品）也应用 0.1×TE 缓冲液稀释