



# Food DNA Extraction Kit

## 食品样品 DNA 提取试剂盒

### 产品简介

食品成分复杂，除含有多种原料组分外，还含有盐、糖、油、色素等食品添加剂，此外，加工过程中的煎、炸、煮、烤等工艺也会使原料中的DNA会受到不同程度的损坏。因此，从加工食品中提取DNA相对比较困难。

食品DNA提取试剂盒（Food DNA kit）采用独特的缓冲液系统，特别适合从深加工食品中提取DNA。无需酚/氯仿抽提，使用安全快捷方便，可最大限度去除深加工食品中的蛋白、脂肪及其他有机化合物等杂质。所纯化的DNA完整性好，质量稳定可靠可直接用于PCR等实验。

### 试剂盒组成

产品编号	D2401	D2405	D2406	D2407
次数	5	50	100	200
纯化柱子	5	50	100	200
收集管	5	50	100	200
Buffer FL	1.2ml	15ml	30ml	55ml
Buffer BL	1.2ml	15ml	30ml	55ml
Buffer WB	3ml	33ml	55ml	110ml
DNA Wash Buffer	2ml	13ml	26ml	26ml*2
Proteinase K	120μl	1.05ml	1.05ml*2	2.1ml*2
说明书	1	1	1	1

### 储存和稳定性

室温保存，24个月内有效。Buffer BL可能有沉淀产生，37℃水浴溶解后即可。Proteinase K常温运输，-20℃保存。

### 实验前准备

请详细阅读该手册并熟悉各个步骤，在开始之前准备好所有的试剂盒组分和必需的器材。

### 浓缩的DNA Wash Buffer需用无水乙醇按如下稀释：

D2401 加8 ml；D2405加入52 ml；D2406与D2407每瓶加入104 ml 无水乙醇

### 需自备器材

无水乙醇 1.5ml离心管 水浴 离心机

### 操作步骤

#### 1.材料处理：

**A:酱油样品预处理：**取酱油30ml，加入60ml无水乙醇混匀，置冰箱（-20oC）放置10min后，6000 x g离心10min。弃上清，在沉淀中加入30ml 0.1M Tris(pH8.0)溶液，用力摇匀，全部转移至100ml烧杯中，于磁力搅拌器上搅拌2h。转移至50ml离心管中，6000xg离心10min,弃上清，沉淀用10ml 0.1M Tris(pH8.0)洗涤一次,弃上清,沉淀用200μl Buffer FL重悬。

**B:番茄酱样品预处理：**取番茄酱液态加工样品1.5ml于离心管中，10000rpm离心15min。弃上清，用1ml 0.1M Tris(pH8.0)洗涤样品3次，振荡混匀，10000rpm离心15min。弃上清，沉淀用200μl Buffer FL重悬。

**C:牛奶等液态样品：**取50ml牛奶，用移液器除去漂浮的脂肪层后，置样品于37℃水浴中孵育10min，期间颠倒混匀几次。6000 x g离心10min,离心后会有脂肪凝块，弃凝块与牛奶上清，沉淀加入10ml PBS或0.1M Tris,混匀后,6000 x g离心10min,弃上清,沉淀用200μl Buffer FL重悬。

**D:薯片等固态样品：**直接研磨成粉末后称取100mg置于2ml离心管中，加入1ml 0.1M Tris，充分涡旋混匀后，12000rpm离心5min，弃上清，沉淀用200μl Buffer FL重悬。

**2.加入20μl Proteinase K（20mg/ml），涡旋混匀，于55℃水浴孵育30-60min,期间涡旋几次。**

**3.加入220μl Buffer BL，振荡15 秒，70℃放置10 分钟，溶液应变清亮。**

注意：加Buffer BL 时可能会产生白色沉淀，一般70℃放置时会消失，不会影响后续实验。如溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取DNA量少和提取出的DNA不纯。

**4.室温下，10,000×g离心5min去除不溶解的杂质，小心将上清液转移到新的离心管中，丢弃沉淀。**

**5.可选步骤：**对DNA含量极少的样品，如酱油，向上清中加入1μl Carrier RNA（须另外订购，货号：G0217）。

**6.加220μl无水乙醇，充分振荡混匀15 秒，此时可能会出现絮状沉淀。**

**7.将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入一GBC吸附柱中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm（~13,400×g）离心30 秒，倒掉废液，将GBC吸附柱放入收集管中。**

**8.加入500μl Buffer WB，12000 rpm离心30 秒，倒废液，将吸附柱放入收集管中。**

**9.向GBC吸附柱 中加入600μl DNA Wash Buffer（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm（~13,400×g）离心30 秒，倒掉废液，吸附柱放入收集管中。**

**10.再用600μl DNA Wash Buffer洗涤一次。**

**11.12,000 rpm离心2 分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。**

**12.将吸附柱转入一干净的离心管中，向膜的中间部位加50-200 μl TE或灭菌去离子水，室温放置2 分钟，12,000 rpm离心2 分钟，保存过滤液备用。**

### DNA提取效果检测

由于食品中DNA含量非常低，普通琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计等方法都不能很准确的检测，一般用PCR或荧光定量PCR来检测提取效果。

## 可能出现的问题与对策

问 题	原 因	建 议
纯化柱阻塞	裂解不完全	延长加入 Buffer TL 和蛋白酶后的裂解放置时间。加入正确体积的 Buffer BL 和于 70℃放置一段指定的时间。
	样本太多	如果使用大于 30mg 的组织，增加蛋白酶，TL 与 BL 的用量，
	样本太粘滞	增加 TL 与 BL 的用量
低 DNA 量	柱子阻塞	见上述.
	洗脱液不足	重复洗脱或增加洗脱体积（见前面的注意事项），加入 DNA 洗脱液并将柱子置于 70℃放置 5min 有助于提高产量。
	洗涤不恰当	DNA 洗涤缓冲液在使用前用无水乙醇按指示稀释。
低 $A_{260}/A_{280}$ 比率	由于与 Buffer BL 混和不完全导致细胞裂解不足	重复操作确保这次将样本与 Buffer BL 彻底混和均匀.
	由于放置时间不够导致细胞裂解或蛋白降解不完全	延长放置时间，确保没有可见的组织碎块剩余.
	样本富含蛋白质	使用柱子之后，先用 300 $\mu$ l 的 1: 1 的 Buffer BL 和乙醇混和液洗涤，然后用 DNA 洗涤缓冲液洗涤。
没有洗脱出 DNA	与 Buffer BL 混和不恰当导致细胞裂解不足	到吸附柱之前用 Buffer BL 混和完全.
	用 Buffer TL 时导致细胞或蛋白质裂解不足	组织样本必须剪成或切成碎块。使用 Buffer TL 时增加于 65℃的放置时间，确保组织被完全裂解.
	Buffer BL 中没有加入无水乙醇	样品过柱前，必须加入无水乙醇调整结合条件
	浓缩洗涤液没有加入乙醇	使用前用指定体积的乙醇稀释 DNA 洗涤缓冲液。
洗涤时柱中有带颜色的遗留物	由于与 Buffer BL 混和不恰当导致不完全裂解	Buffer BL 是粘稠的，故样本必须与之剧烈混和完全.
	Buffer BL 中没有加入无水乙醇	样品过柱前，必须加入无水乙醇调整结合条件

## 可能用到的产品

货号	品名	规格
P3105	Plasmid Maix Kit	10T
P2105	Endo-free Plasmid Mini kit	50T
P6105	Yeast Plasmid Kit	50T
C4105	MiniElute DNA-Pure Kit	50T
P3415	2XPCR Master Mix	1ml
D1105	Blood DNA Kit	50T
D4105	Plant DNA Kit	50T
D7105	Hpure Fugal DNA Kit	50T
D3105	Baterial DNA Kit	50T
D8105	Soil DNA Kit	50T
R1106	TRNsol(TRIzol)	100ml
R4105	Total RNA Kit II	50T
R5105	Plant RNA Kit	50T
G4210	DH5a 感受态	5*0.2ml
G0668	DEPC-water	100ml
G3420	6X loading buffer	2ml
G3422	DAB 染色液	100ml
G0577	苏木素伊红染色液	50ml*2
G3424	RIPA 裂解液	100ml
P0018	ECL 发光液	100ml
G3418	TMB Solution For Blotting	100ml
G4308	TMB solution For Elisa	100ml
G3005	30%丙烯酰胺 (29:1)	500ml
G3403	40%丙烯酰胺 (37.5:1)	500ml
G0528	4%多聚甲醛	500ml
G3422	BCA 蛋白浓度测定试剂盒	500T
G3155	Bradford 蛋白浓度测定试剂盒	1000T
G4256	10X 丽春红染色液	10ml

### 广州捷信斯生物科技有限公司

地址：广州市国际生物岛螺旋四路一号研发B区403

电话：020-82160415 Email: genebase@vip.163.com WEB:www.gbcbio.cn