

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，整个提取过程只需 60 分钟。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
DNA Extraction Mini Columns II	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 MBL	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℃)保存 12 个月，长期保存时需置于 2-8℃。低温下，Buffer TL 可能会有沉淀形成，需 37℃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 50mg 研磨粉碎的食品样品至 2ml 离心管中，加入 500μl Buffer TL, 20μl Proteinase K，充分涡旋混匀，65℃振荡温浴 30 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 180μl Buffer IRP 至消化液中，涡旋混匀 15 秒直至溶液均一，4℃或冰上放置 5 分钟。
3. 13,000×g 离心 5 分钟，转移 500μl 上清液至新的离心管中。
4. 加入 500μl Buffer MBL，涡旋混匀 15 秒，55℃温浴 10 分钟。（由于样品及裂解液均为粘稠液体，需要充分颠倒三四次后再进行涡旋才可使液体混成均一相，涡旋时应产生涡流现象）

过柱纯化

1. 加入 500μl 无水乙醇至消化液中，涡旋混匀 15 秒。
加入乙醇时有沉淀形成，属正常现象。用移液枪吸打 5~10 次打散沉淀。
2. 把 DNA Extraction Mini Columns II 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 750μl，分次过柱。

3. 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 \times 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 \times g 离心 10 秒。
5. 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 \times g 离心 10 秒。
6. 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。

7. 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。
8. 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 50mg 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 MBL 混匀不充分。加入 Buffer MBL 后先颠倒混匀 3~5 次，然后以最高速度涡旋让样品与 Buffer MBL 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。