

版本号: DP121221

GMO food DNA Extraction Kit

深加工食品DNA提取试剂盒

(非离心柱型)

目录号: DP326

产品内容

产品组成	DP326 (100 preps)
缓冲液GMO1 (Buffer GMO1)	50 ml
缓冲液GMO2 (Buffer GMO2)	20 ml
Proteinase K	2 × 1 ml
洗脱缓冲液TE (Buffer TE)	15 ml

储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25°C) 干燥条件下, 可保存12个月, 更长时间的保存可置于 2-8°C。2-8°C 保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在37°C水浴中预热10 min, 以溶解沉淀。

产品简介

由于食品成分复杂，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比从原材料中提取DNA相对的困难。

本试剂盒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。

使用本试剂盒提取的深加工食品DNA可适用于各种检测，包括PCR、荧光定量PCR实验。

产品特点

简单快速： 2 h左右（不包括预处理时间）即可获得高质量的DNA。

超 纯： 获得的DNA纯度高，可直接用于PCR、荧光定量PCR等分子生物学实验。

得 率 高： 从100 mg样品中即可获得足够用于PCR检测的DNA量；

注意事项： 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 酱油、番茄酱等样品应进行预处理，以达到好的提取效果。特殊样品请咨询本公司后进行提取。
 2. 如果缓冲液GMO1中出现沉淀，可在37°C水浴中重新溶解，摇匀后使用。
 3. 所有离心步骤均为使用台式离心机，室温下离心。
-

操作步骤

针对酱油含有较多焦糖色素、番茄酱pH值过低等不利于DNA提取的特点，在正式进入试剂盒提取之前，应对提取样品进行预处理。

酱油样品预处理：取酱油30 ml，加入60 ml无水乙醇混匀，置冰箱（-20℃）放置10 min后，10,000 rpm离心10 min。弃上清，在沉淀中加入30 ml 0.1M Tris.Cl(pH8.0)溶液，用力摇匀，全部转移至100 ml烧杯中，于磁力搅拌器上搅拌2 h。分装至1.5 ml离心管中，12,000 rpm离心10 min。弃上清，加入1.5 ml 0.1M Tris.Cl(pH8.0)溶液，涡旋振荡至块状打散，12,000 rpm离心10 min。弃上清，沉淀中的焦糖色素及盐等小分子已全部去除，可直接用于DNA提取。

番茄酱样品预处理：取番茄酱液态加工样品1.5 ml于离心管中，10,000 rpm离心15 min。弃上清，用1 ml 0.1M Tris.Cl溶液洗涤样品3次，振荡混匀，10,000 rpm离心15 min。弃上清，留沉淀待用。

1. 称取研碎的深加工食品100 mg或上述预处理的样品，加500 μ l缓冲液GMO1和20 μ l的Proteinase K (20 mg/ml)，旋涡振荡1 min。
2. 56℃孵育1 h。孵育过程中每15 min振荡一次。
3. 加入200 μ l缓冲液GMO2，充分混匀，涡旋振荡1 min。室温静置10 min。
4. 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心5 min，将上清转移至新的离心管中。
5. 向上清液中加入0.7倍体积的异丙醇，充分混匀。（例如500 μ l的水相溶液加350 μ l异丙醇），12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心3 min，弃上清，保留沉淀（此步沉淀可能看不见）。

注意：加异丙醇沉淀后，弃上清应小心，防止把DNA倒出。

6. **可选步骤：**在步骤5加异丙醇之前，向上清液中加入1 μ l Carrier RNA（酱油、番茄酱必加），再加入异丙醇。（Carrier RNA目录号：RT416-02）
7. 加入700 μ l 70%乙醇，涡旋振荡5 sec，12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心2 min，弃上清。
8. 重复操作步骤7。

注意：弃上清应小心，防止把DNA倒出。

9. 开盖倒置，室温5-10 min，彻底晾干残余的乙醇。

注意：乙醇的残留会影响后续的酶反应（PCR、荧光定量PCR等）实验。

10. 加入20-50 μl 洗脱缓冲液TE，旋涡振荡1 min，最终得到DNA溶液。

DNA提取效果检测

由于深加工食品中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DNA提取效果。

如采用TIANGEN 公司2 \times Taq PCR MasterMix (目录号：KT201)进行DNA提取效果检测（Lectin基因、Zein基因、Patatin基因检测）：

反应体系

PCR反应体系的建立，20 μl 体系如下：

组成成份	体积
2 \times Taq PCR MasterMix	10 μl
引物-F (10 μM)	0.5 μl
引物-R (10 μM)	0.5 μl
模版	4 μl
ddH ₂ O	5 μl

反应条件

95 $^{\circ}\text{C}$ 3 min

95 $^{\circ}\text{C}$ 30 sec

50-65 $^{\circ}\text{C}$ 30 sec

72 $^{\circ}\text{C}$ 30 sec

72 $^{\circ}\text{C}$ 3 min

} 35 cycles

结果检测

反应结束后取5-10 μl 反应产物，琼脂糖凝胶电泳检测。
