

EasyPure® Food and Fodder Security Genomic DNA Kit

使用前请仔细阅读说明书

目录号: EE171

保存: 试剂盒在室温(15-25℃)干燥条件下保存一年; Carrier RNA -20℃保存一年。

产品说明

本试剂盒采用改良的CTAB裂解法, 无需酚/氯仿抽提, 利用硅胶膜离心柱特异地吸附DNA, 可最大程度去除材料中的蛋白质、脂类及其它有机化合物等杂质。本试剂盒有效地解决了从深加工食品中提取基因组DNA时, 高盐、高色素、极端pH等因素造成的断裂DNA片段以及由其它因素形成的微量DNA片段。此外, 本试剂盒提取基因组DNA时遗失量少, 针对饲料的检测, 可检测到含量为0.001%的动物源性成分。适用于从农作物、深加工食品、肉源产品、饲料等常规检验物质中提取基因组DNA, 提取的基因组DNA可用于转基因检测、肉源性检测、饲料动物源性检测等。

特点

- 裂解能力强, 提取速度快。
- 纯度高, 离心柱高效、特异吸附DNA。有效去除蛋白质、盐类等杂质。

样品要求

Material	Amount
种子及相关面粉	200 mg
酱油、豆浆等液体加工食品	20 ml
豆油、菜籽油等油类食品	20 ml
方便面、薯片、番茄酱等加工食品	200 mg
可可豆、巧克力	200 mg
牛肉、羊肉、猪肉等生肉	200 mg
牛、羊、猪源等加工食品	200 mg
牛、羊等饲料	200 mg

试剂盒组成

Component	EE171-01 (50 rxns)
Resuspension Buffer 13 (RB13)	180 ml
Lysis Buffer 13 (LB13)	30 ml
Precipitation Buffer 13 (PB13)	12 ml
Precipitation Buffer 14 (PB14)	18 ml
Dissolving Buffer (DB)	6 ml
Binding Buffer 13 (BB13)	10 ml
Carrier RNA (1 µg/µl)	55 µl
Clean Buffer 13 (CB13)	55 ml
Wash Buffer 13 (WB13)	12 ml
Elution Buffer (EB)	10 ml
Proteinase K (20 mg/ml)	1 ml
Genomic Spin Columns with Collection Tubes	50个



自备试剂

无水乙醇、异丙醇

操作方法

使用前加不同体积100%无水乙醇到BB13和WB13中，所有操作均在室温下进行。

规格	BB13	WB13
50 rxns	15 ml	48 ml

食品基因组DNA提取

1、材料预处理

(一) 方便面、薯片、番茄酱、巧克力、可可豆、植物种子、肉类等固体食品

- 取适量固体食品，研磨至粉碎(植物种子、肉类等样品也可用液氮研磨)。称取200 mg上述预处理的样品至2 ml离心管中。
- 加入1 ml RB13，充分振荡混匀，静置2分钟，12,000×g离心2分钟，弃上清。
- 重复上述步骤两次。

(二) 酱油、豆浆等液体食品

- 取20 ml液体食品于50 ml离心管中，12,000×g离心10分钟，弃上清。
- 向沉淀中加入1 ml RB13，反复吹打至沉淀全部溶解，将液体吸取至2 ml离心管中，静置2分钟，12,000×g离心2分钟，弃上清。
- 重复上述步骤两次。

(三) 豆油、菜籽油等油类食品

- 取20 ml 油类食品于50 ml离心管中，加入2 ml RB13，剧烈振荡混匀，室温静置20分钟。
- 12,000×g离心10分钟，小心吸取1 ml下层水相至2 ml离心管中。

2、加入500 µl LB13和20 µl Proteinase K (20 mg/ml)，充分振荡混匀，55℃孵育不低于1小时。孵育过程中，每间隔15分钟颠倒混匀一次。

3、加入200 µl PB13，充分振荡混匀，冰浴10分钟。(若需去除RNA，则在该步骤前加入20 µl RNase A (10 mg/ml)，混匀后室温静置5分钟。)

4、15,000×g离心5分钟，小心吸取600 µl上清至2 ml 离心管中。

5、加入300 µl PB14，上下颠倒混匀，静置5分钟。

6、加入1 µl Carrier RNA和630 µl异丙醇，上下颠倒混匀。(若非深加工食品，则无需加Carrier RNA。)

7、15,000×g离心5分钟，小心弃上清，保留沉淀。(某些深加工食品此步沉淀可能看不见。)

8、加入100 µl DB，反复吹打使沉淀完全溶解。(可能有些沉淀不易溶解，但不影响后续实验。)

9、加入400 µl BB13，上下颠倒混匀，将全部液体转移至离心柱中，12,000×g离心30秒，弃流出液。

(使用前检查BB13是否加入了无水乙醇。)

10、向离心柱中加入500 µl CB13，12,000×g离心30秒，弃流出液。

11、重复步骤10一次。

12、向离心柱中加入500 µl WB13，12,000×g离心30秒，弃流出液。(使用前检查WB13是否加入了无水乙醇。)

13、重复步骤12一次。

14、12,000×g离心2分钟，弃流出液。

15、将离心柱置于新的离心管中，向膜中央加入50 µl EB，室温静置2分钟，12,000×g离心1分钟，即可得到高质量的基因组DNA。(若要获得较多的基因组DNA，可重复此步。)



饲料基因组DNA提取

1、材料预处理

- 取适量饲料样品，研磨至粉碎。
- 称取200 mg上述预处理的样品至2 ml离心管中，加 1 ml RB13，充分振荡混匀，静置2 分钟，12,000×g离心2分钟，弃上清。
- 重复上述步骤两次。

2、加入500 µl LB13和20 µl Proteinase K (20 mg/ml)，充分振荡混匀，55℃孵育100分钟。孵育过程中，每间隔20分钟颠倒混匀一次。

3、加入200 µl PB13，充分振荡混匀，冰浴10 分钟。(若需去除RNA，则在该步骤前加入20 µl RNase A (10 mg/ml)，混匀后室温静置5分钟。)

4、15,000×g离心5分钟，小心吸取600 µl上清至2 ml 离心管中。

5、加入300 µl PB14，上下颠倒混匀，静置5分钟。

6、加入 1 µl Carrier RNA和630 µl异丙醇，上下颠倒混匀。

7、15,000×g离心5分钟，弃上清，保留沉淀。

8、加入100 µl DB，反复吹打使沉淀尽量溶解。(可能有些沉淀不易溶解，但不影响后续实验。)

9、加入400 µl BB13，上下颠倒混匀，将全部液体转移至离心柱中，12,000×g离心30秒，弃流出液。

(使用前检查BB13是否加入了无水乙醇。)

10、向离心柱中加入500 µl CB13，12,000×g离心30 秒，弃流出液。

11、重复步骤10一次。

12、向离心柱中加入500 µl WB13，12,000×g离心30秒，弃流出液。(使用前检查WB13是否加入了无水乙醇。)

13、重复步骤12一次。

14、12,000×g离心2分钟，弃流出液。

15、将离心柱置于新的离心管中，向膜中央加入50 µl EB，室温静置2分钟，12,000×g离心1分钟，即可得到高质量的基因组DNA。(若要获得较多的基因组DNA，可重复此步。)

注意事项

如果Lysis Buffer 13中有沉淀产生，可在37℃水浴中彻底溶解，摇匀后使用。

DNA提取效果检测

- 由于深加工食品或饲料中微量动物源性成分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准确地检测。一般用PCR或qPCR来检测DNA提取效果。
- 如使用2×EasyTaq® PCR SuperMix (+dye)(目录号AS111-11)检测DNA提取效果，以扩增植物18S rDNA保守序列为例：

PCR体系

(以25 µl 反应体系为例)

Component	Volume	Final Concentration
Template	2 µl	as required
2×EasyTaq® PCR SuperMix	12.5 µl	1×
18S Forward Primer (10 µM)	0.5 µl	0.2 µM
18S Reverse Primer (10 µM)	0.5 µl	0.2 µM
Nuclease-free Water	9.5 µl	-
Total Volume	25 µl	-



PCR条件

94℃	5 min	} 35 cycles
94℃	30 sec	
55℃	30 sec	
72℃	30 sec	
72℃	5 min	

结果检测

反应结束后取5-10 μ l产物，琼脂糖凝胶电泳检测。

注意

- PCR或qPCR检测时，所加的模板量应根据检测材料的情况而定。如检测植物种子转基因时，所加模板量为1-2 μ l，但当检测多种组分混合物中的一种微量组分时，所加模板量一般为4 μ l。
- 如为特殊样品，请咨询本公司后再进行提取或检测。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1-202008

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

