

MagPure Food DNA Kit

磁珠法食品 DNA 提取试剂盒

本产品从各种深加工食品和油品中提取 DNA。

产品组分 瓶装试剂

| 产品编号 | D6350-00 | D6350-01 | D6350-02 | D6350-03 |
|-----------------------|----------|----------|----------|----------|
| 纯化次数 | 24 次 | 48 次 | 96 次 | 480 次 |
| RNase Solution | 0.2 ml | 0.3 ml | 0.6 ml | 2.7 ml |
| Proteinase K Solution | 0.3 ml | 0.6 ml | 1.2 ml | 5.5 ml |
| MagPure Particles | 0.6 ml | 1.1 ml | 2.5 ml | 11 ml |
| Buffer ATL | 30 ml | 50 ml | 90 ml | 400 ml |
| Buffer PPB | 15 ml | 30 ml | 70 ml | 300 ml |
| Buffer PPC | 30 ml | 50 ml | 90 ml | 400 ml |
| Elution Buffer | 10 ml | 10 ml | 30 ml | 30 ml |

产品组分 预分装试剂

| 货号 | 试剂组份与装量 | D6350-TL-06 | D6350-S-48 |
|-----------------------|---------------------------|-------------|------------|
| 纯化次数 | | 96 次 | 48 次 |
| RNase Solution | | 0.6 ml | 0.3 ml |
| Proteinase K Solution | | 1.2 ml | 0.6 ml |
| Buffer ATL | | 90 ml | 50 ml |
| Buffer PPB | | 70 ml | 30 ml |
| Buffer PPC | | 90 ml | 50 ml |
| TL-Tip | | 12 个 | 24 个 |
| 尖底板 试剂条 | 1/7孔: 400µl 异丙醇/15µl 磁珠MP | 6 块 | 48 条 |
| | 2/8孔: 400µl 异丙醇/15µl 磁珠MP | | |
| | 3/9孔: 400µl Buffer PPB | | |
| | 4/10孔: 800µl Buffer GW2 | | |
| | 5/11孔: 800µl Buffer GW2 | | |
| | 6/12孔: 80µl 洗脱液 EB | | |

保存条件 本产品室温运输, 收到产品后, 把 Proteinase K Solution 和 RNase Solution 保存于 2-8℃, 其余产品保存于室温, 有效期 18 个月。

方案 1：常规食品材料的上清液制备（简易方案）

1. 转移 200mg 食物材料至 2ml 离心管中，加入 800 μ l Buffer ATL 和 10 μ l Proteinase K，55 $^{\circ}$ C 振荡(1500~2000rpm)温育 30 分钟。
根据材料体积和特性，调整裂 Buffer ATL 体积。若样品在管底结块且涡旋后无法重悬，用移液枪头手动重悬。处理 DNA 含量低的食品材料，材料用量可放大至 1g，按比例增加试剂用量。
2. 加入 5 μ l RNase Solution 混匀，室温放置 10 分钟。
3. 加入 400 μ l Buffer PPC，剧烈涡旋混匀 10~15 秒，13,000 \times g 离心 10 分钟。
若涡旋无效，可剧烈振荡离心管以重悬材料。也可使用干净的小移液枪头破碎结块。
4. 转移 500~800 μ l 上清液至新的 2.0ml 离心管中。
若液体表面存在悬浮物，小心移液下层溶液，并避免吸入悬浮物。
5. 加入 20 μ l MagPure Particles 至上清液混匀。
6. 加入 0.8 倍上清液体积的异丙醇，颠倒混匀 15-20 次，室温放置 5 分钟，其间颠倒混匀数次，磁力架静置吸磁 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。
7. 加入 300 μ l Buffer PPB，涡旋 5~10 秒，颠倒混匀数次，磁力架吸磁，倒弃或吸弃溶液。
8. 加入 1ml 75%乙醇，涡旋 5 秒，磁力架吸磁，倒弃或吸弃溶液，重复这一步两次，用 75%乙醇清洗磁珠共三次。
9. 短暂离心收集液滴并吸尽残液，室温干燥 15 分钟或 55 $^{\circ}$ C 烘干 10 分钟干燥磁珠。
10. 加入 50~100 μ l Elution Buffer，55 $^{\circ}$ C 振荡温育 10 分钟溶解 DNA。短暂离心磁力架吸磁 1 分钟，把 DNA 转移至新的离心管中。

方案 2：常规食品材料的上清液制备(经典方案)

常规种子或根块类材料，或淀粉含量高的材料（如米粉/面粉等），方案 1 产量更高且操作更方便。但食品材料类型和来源广泛，方案 2 仿制 Promega 公司的 FF3750 流程，处理方案 1 失败样品，可以对比测试方案 2，以获得最佳的效果。

1. 转移 200mg 食物材料至 2ml 离心管中，将离心管倾斜放置，使干燥材料覆盖管壁，加入 500 μ l Buffer ATL 和 5 μ l RNase A，盖紧离心管并剧烈涡旋混匀。
根据起始材料体积和特性，调整裂 Buffer ATL 体积。若样品在管底结块且涡旋后无法重悬，用移液枪头手动重悬。处理 DNA 含量低的食品材料，材料用量可放大至 1g，按比例增加试剂用量。
2. 加入 250 μ l Buffer PPB，涡旋混匀 10-15 秒，室温（22-25 $^{\circ}$ C）孵育 10 分钟。

3. 加入 750 μ l Buffer PPC, 剧烈涡旋 10~15 秒, 13,000 \times g 离心 10 分钟, 按方案 1 的第四步操作纯化 DNA。

方案 3: 160g 油品 DNA 的制备

1. 取 4 个 50ml 离心管, 每管加入 40ml 油品。每管加入 2ml Buffer ATL, 剧烈振荡让水相与油相充分混合, 混合后溶液呈现不透明。
2. 每管加入 1ml Buffer PPB, 剧烈振荡让水相与油相混合, 室温放置 10 分钟, 期间混匀两次。
3. 每管加入 3ml Buffer PPC, 剧烈振荡 1 分钟让水相与油相混合, 4,000 \times g 离心 >20 分钟。用 5~10ml 移液管吸弃上层油相。
离心分离时需确保水相与油相完全分离, 中间形成致密白色界面。
4. 转移下层水相并且合并至一个 50ml 离心管中, 用吸水纸擦拭移液管尖端, 避免油相和界面物质混入裂解液。
5. 加入 200 μ l MagPure Particles 至上清液混匀。
6. 加入 0.9 倍上清液体积的异丙醇, 颠倒混匀 10~15 次, 室温振荡混匀 1 小时。
建议用旋转混匀仪进行混匀, 或侧放于摇床中进行混匀, 混匀过程确保磁珠处于重悬状态。
7. 磁力架吸附磁珠或 3000 \times g 离心 5 分钟沉淀收集磁珠, 倒弃或吸弃溶液。
8. 加入 1.8ml 80%乙醇, 涡旋重悬磁珠, 转移至 2.0ml 离心管中, 磁力架吸磁, 倒弃或吸弃溶液, 重复用 1.8ml 80%乙醇清洗磁珠总共三次。
9. 短暂离心收集液滴并吸尽残液, 55 $^{\circ}$ C 烘干 15~20 分钟。
11. 加入 60~80 μ l Elution Buffer, 55 $^{\circ}$ C 振荡温育 10 分钟, 短暂离心磁力架吸磁 1 分钟, 把 DNA 转移至新的离心管中。

方案 4: 卵磷脂和巧克力 DNA 提取

1. 称重 10 克液态卵磷脂、5 克干卵磷脂颗粒或 5-10 克巧克力样品置于 50ml 离心管中。纯卵磷脂样品, 加入 8ml Buffer ATL、4ml Buffer PPB 以及 20-25ml 正己烷, 充分混匀直至样品完全溶解 (根据样品粘度可能需要数分钟)。巧克力样品, 加入 8ml Buffer ATL 和 4ml Buffer PPB, 热水温育让巧克力融化并充分混合, 再加入 20-25ml 正己烷充分混匀。
2. 4,000 \times g 离心 5 分钟形成清晰的正己烷 (上层) 与水相 (下层) 分离层, 其间存在不同量的界面, 移除正己烷并弃置废液。

- 再加入 20ml 正己烷混匀, 4,000 × g 离心 5 分钟, 移除正己烷层。
- 对于干卵磷脂和巧克力样品, 使用移液管转移出下层水相至试剂管, 同时避免接触浓稠白色界面 (卵磷脂) 或深褐色粘稠物质 (巧克力)。每次转移后需擦拭移液管尖端外侧。液态卵磷脂样品可跳过此步骤。
- 加入 12ml Buffer PPC, 涡旋混匀, 然后再加入 20ml 氯仿, 振荡混匀 1 分钟。
- 4,000 × g 离心 5 分钟, 转移上层水相至新的 50ml 离心管, 按方案 3 的第 5-11 步操作。

方案 5: 200mg 食品的核酸提取仪操作

- 按方案 1 和方案 2 制备上清液。
- 在第 1/7 排孔和 2/8 排孔中, 分加入 400~500 μ l 上清液。
- 把磁力外套插到仪器中, 把 96 孔板放到仪器中(A1 孔按左内角放置)。
- 启动程序, 约 40 分钟, 结束提取。取出 96 孔板和磁力外套。
- 把 DNA 转移至 1.5ml 离心管中, 把产物保存于-20~8 $^{\circ}$ C。

| 序号 | 步骤名称 | 孔位 | 容积 | 混合时间 | | 等待 | | 磁吸时间 | | | 吸磁 | 加热 | |
|----|------|----|-----|------|----|---------|----|------|----|----|----|----|----|
| | | | | 时间 | 速度 | 时间 | 位置 | 升降 | 液面 | 底部 | | 板位 | 温度 |
| 1 | 结合1 | 1 | 800 | 300s | 8 | 0 | 0 | 60s | 30 | 30 | 自动 | / | / |
| 2 | 结合2 | 2 | 800 | 300s | 8 | 0 | 0 | 60s | 30 | 30 | 自动 | / | / |
| 3 | 清洗1 | 3 | 400 | 90s | 8 | 0 | 0 | 60s | 30 | 30 | 自动 | / | / |
| 4 | 清洗2 | 4 | 800 | 60s | 8 | 0 | 0 | 60s | 0 | 0 | 自动 | / | / |
| 5 | 清洗3 | 5 | 800 | 60s | 8 | 0 | 0 | 60s | 0 | 0 | 自动 | / | / |
| 6 | 干燥 | 5 | 0 | 0 | 0 | 6min/晾干 | | 0 | 0 | 0 | 自动 | / | / |
| 7 | 洗脱 | 6 | 100 | 400s | 9 | 0 | 0 | 60s | 0 | 50 | 自动 | 6 | 55 |
| 8 | 弃磁 | 5 | 500 | 30s | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 自动 | / | / |