

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 MagPure Particles、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，调整裂解液 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，再重复这一步两次，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，调整裂解液 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 (~20ml) 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 150 μ l MagPure Particles 至上清液, 混匀。
建议: 若水相体积在 10~20ml, 加入 150~200 μ l MagPure Particles;
水相体积在 2~10ml 时, 加入 100 μ l MagPure Particles。
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 3,000 \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. 加入 1ml 无水乙醇, 涡旋重悬磁珠, 磁力架吸磁, 倒弃或吸弃溶液。短暂离心收集液滴并吸尽残液, 打开盖子, 65 $^{\circ}$ C 烘干磁珠 10~15 分钟让乙醇彻底挥发。
10. 加入 80 μ l Elution Buffer, 65 $^{\circ}$ C 振荡温育 5~10 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。

- 4,000 × 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 5-10 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℃。

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	/	/