

Code No. 9178

研究用

TaKaRa

DNA Isolation Reagent
for Meat and Meat Products

说明书

目 录

| 内 容 | 页 码 |
|----------------|-----|
| ● 制品说明 | 1 |
| ● 制品内容 | 1 |
| ● 运输温度 | 1 |
| ● 保存温度 | 1 |
| ● 使用注意 | 1 |
| ● 操作方法 | 1 |
| ● 实验例 | 2 |
| ● 各种材料适合添加量一览表 | 6 |
| ● Q&A | 6 |

● 制品说明

本试剂是从生肉及其加工品、乳制品中提取DNA的专用试剂。本试剂为特别的表面活性剂与吸附PCR有害物质树脂的混合制剂，可从猪、牛、羊等肌肉组织及牛奶、奶粉、香肠等加工品中简便快速提取PCR扩增用DNA模板。本试剂具有以下特点：

1. 操作简便快速，整体操作只需25分钟。
2. 可以获得PCR扩增用DNA。
3. 使用安全，无需使用有害溶剂。
4. 操作简单，不容易产生交叉污染。

本试剂可应用于检测标准中的样品DNA提取，检测标准为：

GB/T21102-2007（动物源性饲料中免源性成分定性检测方法 实时荧光PCR方法）

GB/T21103-2007（动物源性饲料中哺乳动物源性成分定性检测方法 实时荧光PCR方法）

SN/T2051-2008（食品、化妆品和饲料中牛羊猪源性成分检测方法 实时PCR法）

● 制品内容

Extraction Solution

0.5 ml × 50 支

【试剂盒之外所需准备器具】

- ◆ 微量移液枪
- ◆ 微量（冷却）离心机（12,000 rpm）
- ◆ Heat Block 或水浴锅（70℃）
- ◆ 1.5 ml Microtube

● 运输温度： 室温

● 保存温度： 4℃

● 使用注意

以下为使用本试剂时的注意事项，使用前请一定认真阅读。

1. 多数样品同时提取时，注意防止样品间交叉污染。
2. 为防止 DNase 混入造成 DNA 分解，实验操作时请戴实验用手套、口罩。
3. 操作时使用的剪刀需要高温干热灭菌。

● 操作方法

1. 取适量的实验材料（参见附表），放入装有 0.5 ml Extraction Solution 试剂的 Microtube 中。
2. 如果为固态样品，需用灭过菌的剪刀将试剂中的样品尽量剪碎，有助于样品中的 DNA 释放出来，牛奶等液体样品取 50 μl 加入试剂中，混合均匀即可。
3. 盖紧 Microtube 盖，70℃（Heat Block 或水浴锅）加热处理 10 分钟，加热过程中每隔 2-3 分钟用手轻弹混匀，有助于 DNA 释放和树脂对有害物质的吸附。
4. 加热后立即进行 4℃、12,000 rpm 离心 10 分钟，离心后的 Microtube 中将呈图 1 状态。
5. 用移液枪吸取水层，吸取时注意避免取到表面油脂层、树脂以及组织残渣（见图 2）。
6. 通常情况下，吸取的水层可直接作为 PCR 反应的模板。用于普通 PCR 反应，加入量为 PCR 反应总体积的 1/10 以下，50 μl PCR 反应体系中一般加入 1-5 μl；用于 Real Time PCR 反应，25 μl 反应体系中一般加入 1 μl 即可。可根据实际提取状况选择模板的加入量，用量过多，会抑制 PCR 反应。如果吸取的水层直接作为 PCR 反应的模板对反应有阻碍作用时，建议再稀释 5-100 倍使用。

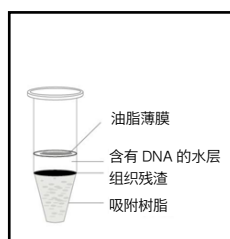


图 1

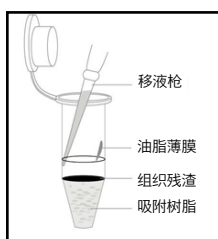


图 2

● 实验例

实验例 1: 取新鲜的牛、羊、猪肌肉组织各 10 mg, 使用本试剂按上述操作方法进行 DNA 提取, 制备检测用模板, 分别使用 Code No. RR910/ RR911/ RR912 检测试剂盒*对提取的三种 DNA 模板进行验证。

* 检测试剂盒

1. Real Time PCR Bovine Detection Kit (Code No. RR910)
2. Real Time PCR Ovine Detection Kit (Code No. RR911)
3. Real Time PCR Porcine Detection Kit (Code No. RR912)

实验结果

| well | sample Name | Filter | Ct (CP) |
|------|------------------------|--------|---------|
| A5 | RR910-H ₂ O | FAM | - |
| A5 | RR910-H ₂ O | HEX | 19.79 |
| A6 | RR911-H ₂ O | FAM | - |
| A6 | RR911-H ₂ O | HEX | 18.91 |
| A7 | RR912-H ₂ O | FAM | - |
| A7 | RR912-H ₂ O | HEX | 18.73 |
| C5 | RR910-Control-Bovine | FAM | 19.84 |
| C5 | RR910-Control-Bovine | HEX | 19.51 |
| C6 | RR911-Control-Ovine | FAM | 21.11 |
| C6 | RR911-Control-Ovine | HEX | 18.22 |
| C7 | RR912-Control-Porcine | FAM | 19.92 |
| C7 | RR912-Control-Porcine | HEX | 18.59 |
| D5 | RR910-Sample-Bovine | FAM | 23.28 |
| D5 | RR910-Sample-Bovine | HEX | 23.84 |
| D6 | RR911-Sample-Bovine | FAM | - |
| D6 | RR911-Sample-Bovine | HEX | 22.85 |
| D7 | RR912-Sample-Bovine | FAM | - |
| D7 | RR912-Sample-Bovine | HEX | 24.64 |
| E5 | RR910-Sample-Ovine | FAM | - |
| E5 | RR910-Sample-Ovine | HEX | 24.05 |
| E6 | RR911-Sample-Ovine | FAM | 21.07 |
| E6 | RR911-Sample-Ovine | HEX | 22.76 |
| E7 | RR912-Sample-Ovine | FAM | - |
| E7 | RR912-Sample-Ovine | HEX | 23.61 |
| G5 | RR910-Sample-Porcine | FAM | - |
| G5 | RR910-Sample-Porcine | HEX | 23.84 |
| G6 | RR911-Sample-Porcine | FAM | - |
| G6 | RR911-Sample-Porcine | HEX | 23.26 |
| G7 | RR912-Sample-Porcine | FAM | 24.15 |
| G7 | RR912-Sample-Porcine | HEX | 25.13 |

| Site | Sample | 检测体系 |
|------|--|----------|
| A5 | H ₂ O (Negative Control) | RR910 体系 |
| A6 | H ₂ O (Negative Control) | RR911 体系 |
| A7 | H ₂ O (Negative Control) | RR912 体系 |
| C5 | Control DNA for Bovine (Positive Control) | RR910 体系 |
| C6 | Control DNA for Ovine (Positive Control) | RR911 体系 |
| C7 | Control DNA for Porcine (Positive Control) | RR912 体系 |
| D5 | Sample of Bovine | RR910 体系 |
| D6 | Sample of Bovine | RR911 体系 |
| D7 | Sample of Bovine | RR912 体系 |
| E5 | Sample of Ovine | RR910 体系 |
| E6 | Sample of Ovine | RR911 体系 |
| E7 | Sample of Ovine | RR912 体系 |
| G5 | Sample of Porcine | RR910 体系 |
| G6 | Sample of Porcine | RR911 体系 |
| G7 | Sample of Porcine | RR912 体系 |

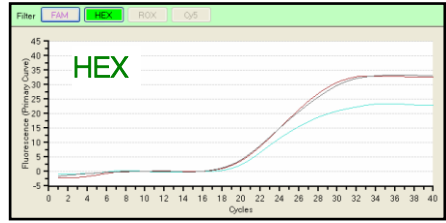
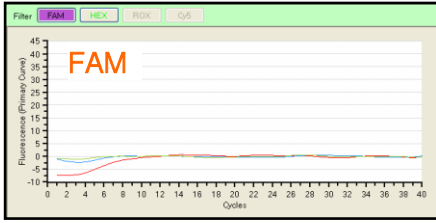
FAM 通道扩增曲线图

(Y 轴: FAM 荧光信号值; X 轴: 循环圈数)

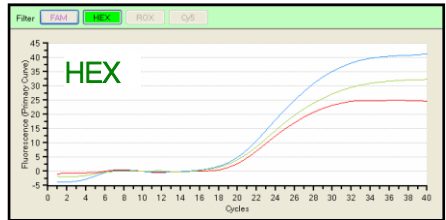
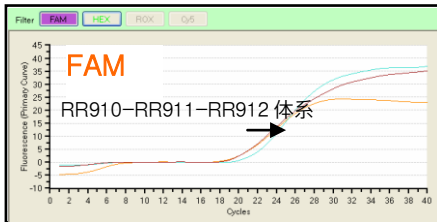
HEX 通道扩增曲线图

(Y 轴: HEX 荧光信号值; X 轴: 循环圈数)

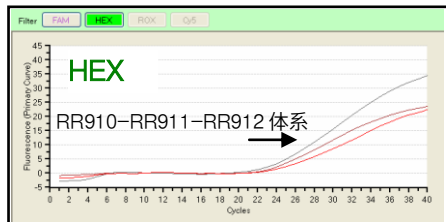
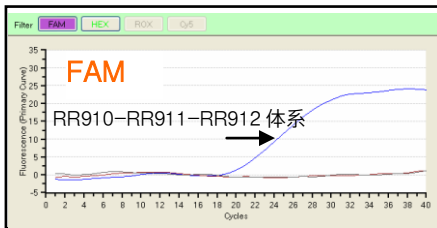
【Negative Control】



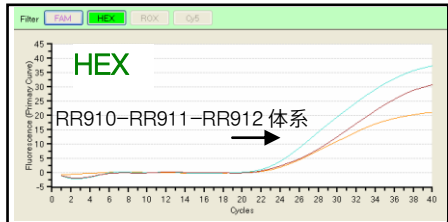
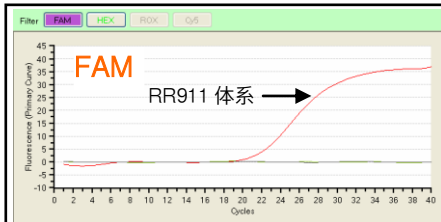
【Positive Control】



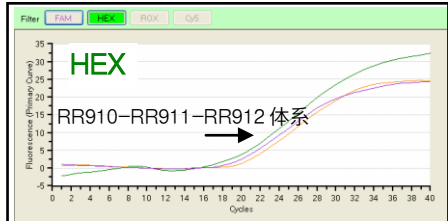
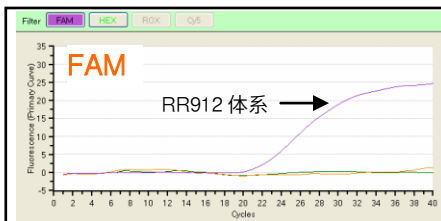
【Sample of Bovine】



【Sample of Ovine】



【Sample of Porcine】



结果判定

| No. | 样品 | 样品的动物源性成分 | 判定结果 |
|-----|-------------------|-----------|-------------------------------|
| 1 | Sample of Bovine | 牛源成分 | 含有牛源性成分, 不含有羊、猪源性成分或含量低于检测界限* |
| 2 | Sample of Ovine | 羊源成分 | 含有羊源性成分, 不含有牛、猪源性成分或含量低于检测界限* |
| 3 | Sample of Porcine | 猪源成分 | 含有猪源性成分, 不含有牛、羊源性成分或含量低于检测界限* |

结果显示, 使用本试剂提取样品 DNA, 每个样品的检测效果良好, 无交叉污染。

* 检测结果的判定标准为: Ct 值>35 判定为不含有或含量低于检测界限。

实验例 2: 取牛奶 (50 μl), 羊肉臊子 (50 mg), 猪肉香肠 (50 mg) 三种加工品, 使用本试剂按上述操作方法进行 DNA 提取, 制备检测用模板, 分别使用 Code No. RR910/ RR911/ RR912 检测试剂盒对提取的三种 DNA 模板进行验证。

实验结果

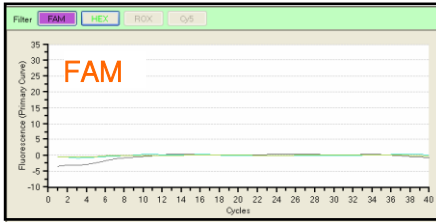
| well | sample Name | Filter | Ct (CP) |
|------|------------------------|--------|---------|
| C1 | RR910-H ₂ O | FAM | - |
| C1 | RR910-H ₂ O | HEX | 18.33 |
| D1 | RR911-H ₂ O | FAM | - |
| D1 | RR911-H ₂ O | HEX | 19.41 |
| E1 | RR912-H ₂ O | FAM | - |
| E1 | RR912-H ₂ O | HEX | 19.45 |
| C3 | RR910-Control-Bovine | FAM | 20.44 |
| C3 | RR910-Control-Bovine | HEX | 17.92 |
| D3 | RR911-Control-Ovine | FAM | 20.61 |
| D3 | RR911-Control-Ovine | HEX | 18.07 |
| E3 | RR912-Control-Porcine | FAM | 20.24 |
| E3 | RR912-Control-Porcine | HEX | 18.08 |
| C8 | RR910-Sample1 | FAM | 25.97 |
| C8 | RR910-Sample1 | HEX | 19.42 |
| D8 | RR911-Sample1 | FAM | - |
| D8 | RR911-Sample1 | HEX | 19.48 |
| E8 | RR912-Sample1 | FAM | - |
| E8 | RR912-Sample1 | HEX | 19.77 |
| C10 | RR910-Sample2 | FAM | 38.10 |
| C10 | RR910-Sample2 | HEX | 19.63 |
| D10 | RR911-Sample2 | FAM | 19.74 |
| D10 | RR911-Sample2 | HEX | 19.17 |
| E10 | RR912-Sample2 | FAM | - |
| E10 | RR912-Sample2 | HEX | 19.12 |
| C12 | RR910-Sample3 | FAM | - |
| C12 | RR910-Sample3 | HEX | 18.75 |
| D12 | RR911-Sample3 | FAM | - |
| D12 | RR911-Sample3 | HEX | 19.00 |
| E12 | RR912-Sample3 | FAM | 24.26 |
| E12 | RR912-Sample3 | HEX | 18.59 |

| Site | Sample | 检测体系 |
|------|--|----------|
| C1 | H ₂ O (Negative Control) | RR910 体系 |
| D1 | H ₂ O (Negative Control) | RR911 体系 |
| E1 | H ₂ O (Negative Control) | RR912 体系 |
| C3 | Control DNA for Bovine (Positive Control) | RR910 体系 |
| D3 | Control DNA for Ovine (Positive Control) | RR911 体系 |
| E3 | Control DNA for Porcine (Positive Control) | RR912 体系 |
| C8 | Sample 1 (牛奶) | RR910 体系 |
| D8 | Sample 1 (牛奶) | RR911 体系 |
| E8 | Sample 1 (牛奶) | RR912 体系 |
| C10 | Sample 2 (羊肉臊子) | RR910 体系 |
| D10 | Sample 2 (羊肉臊子) | RR911 体系 |
| E10 | Sample 2 (羊肉臊子) | RR912 体系 |
| C12 | Sample 3 (猪肉香肠) | RR910 体系 |
| D12 | Sample 3 (猪肉香肠) | RR911 体系 |
| E12 | Sample 3 (猪肉香肠) | RR912 体系 |

FAM 通道扩增曲线图

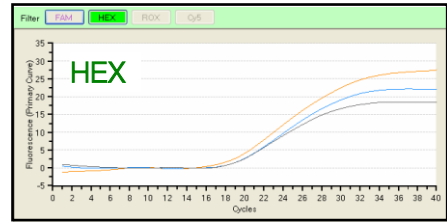
(Y 轴: FAM 荧光信号值; X 轴: 循环圈数)

【Negative Control】

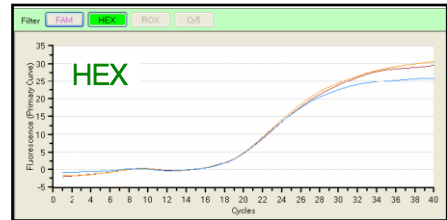
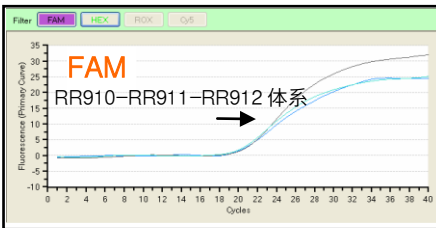


HEX 通道扩增曲线图

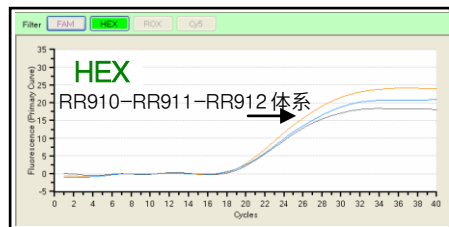
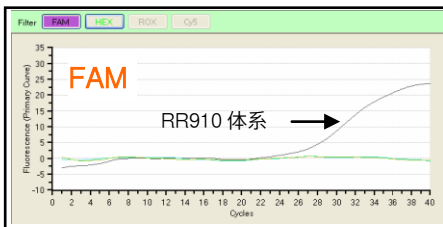
(Y 轴: HEX 荧光信号值; X 轴: 循环圈数)



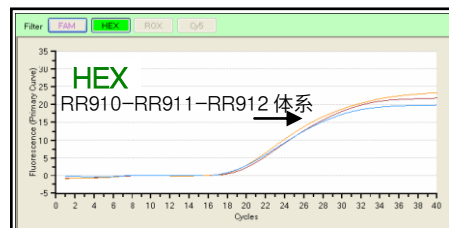
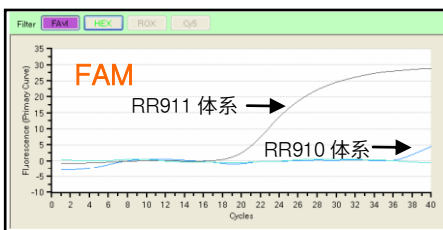
【Positive Control】



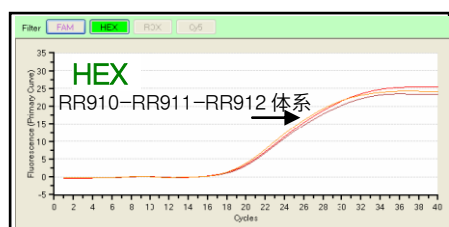
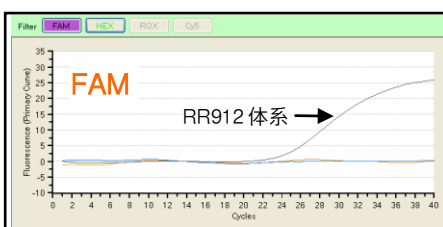
【Sample1 (牛奶) 的扩增曲线】



【Sample2 (羊肉臊子) 的扩增曲线】



【Sample3 (猪肉香肠) 的扩增曲线】



结果判定

| No. | 样品 | 产品标识的动物源性成分 | 判定结果 |
|-----|----------------|-------------|-------------------------------|
| 1 | Sample1 (牛奶) | 牛源成分 | 含有牛源性成分, 不含有羊、猪源性成分或含量低于检测界限* |
| 2 | Sample2 (羊肉臊子) | 羊源成分 | 含有羊源性成分, 不含有牛、猪源性成分或含量低于检测界限* |
| 3 | Sample3 (猪肉香肠) | 猪源成分 | 含有猪源性成分, 不含有牛、羊源性成分或含量低于检测界限* |

结果显示, 使用本试剂提取样品 DNA, 每个样品的检测效果良好, 无交叉污染。

* 检测结果的判定标准为: Ct 值>35 判定为不含有或含量低于检测界限。

● 各种材料合适添加量一览表

各种材料合适添加量

| Sample | 取样量 |
|--------|------------|
| 鲜肉组织 | 10 mg |
| 牛奶 | 50 μ l |
| 酱牛肉 | 50 mg |
| 奶粉 | 30 mg |
| 手抓羊肉 | 50 mg |
| 牛肉干 | 50 mg |
| 猪肉脯 | 50 mg |
| 清蒸猪肉罐头 | 50 mg |
| 猪肉松 | 10 mg |
| 腊肠 | 50 mg |

● Q&A

Q1: 能否进行 RNA 回收?

A1: 本制品是 DNA 回收专用试剂, 不能进行 RNA 回收。

Q2: 一般可以回收多少量的水层溶液?

A2: 通常可以回收 200 μ l~300 μ l 的水层溶液。

Q3: 回收的 DNA 能否用分光光度计进行定量?

A3: 本制品不是核酸纯化试剂, 是 DNA 的粗提试剂, 因此不建议用 UV 分光光度计进行 DNA 定量。

Q4: 回收的 DNA 是否可以通过电泳进行确认?

A4: 因回收的 DNA 量少, 往往不能用电泳进行确认。

Q5: 提取的 DNA 可以保存多长时间?

A5: 我们曾经在 4 $^{\circ}$ C 中保存过 3 个月, 在 -20 $^{\circ}$ C 中保存过一年。

Q6: 如果吸取的水层直接作为 PCR 反应的模板对反应有阻害作用, 如何处理?

A6: 建议稀释 5-100 倍使用。

注意

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经TAKARA BIO INC.书面许可授权或批准，不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品，或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权，请联络我们，或访问我们网站www.takara-bio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

技术咨询热线：

0411-87641685, 87641686

4006518761, 4006518769

TAKARA BIO INC.

URL: <http://www.takara.com.cn>

v201702Da