

旋达[®]R1核酸提取系列

水生动物病原体基因组 DNA/RNA 提取试剂盒 (FAST)

一、简介

水生动物病原体基因组 DNA/RNA 提取试剂盒 (FAST) 适合于快速从动物组织匀浆液中提取高纯度的病原基因组 DNA 和 RNA。本试剂盒基于硅胶柱纯化技术, 提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提, 也无需进行耗时的醇类沉淀, 获得的核酸可直接用于 PCR/RT-PCR、Southern 杂交/Northern 杂交、以及 LAMP/RT-LAMP 等下游实验。

二、原理

本试剂盒采用的硅胶柱以高结合力的玻璃纤维滤膜为基质。滤膜在高浓度离子化剂(如盐酸胍或异硫氰酸胍)条件下, 可通过氢键和静电等物理化学作用吸附核酸, 而蛋白质和其它杂质则不被吸附而去除。吸附了核酸的滤膜经洗涤去除残留的蛋白质和盐, 最后可以用DEPC处理水洗脱滤膜上吸附的核酸, 得到的核酸纯度高, 可直接用于各种下游实验。

水生动物病原体基因组 DNA/RNA 提取试剂盒 (FAST) 基于硅胶柱纯化方式。样品在裂解液中裂解, 核酸释放到裂解液中。在高盐的环境下通过硅胶柱, 核酸被吸附在硅胶柱的膜上, 蛋白质则不被吸附而去除。后经洗涤液洗涤去除盐分, 最后核酸被无核酸酶洗脱液洗脱。

三、组成 (48T)

071131M	
组分	含量
离心柱(套管)	48 个
溶液 1	25 mL
溶液 2	60 mL
溶液 3	10 mL
说明书	1 份

四、保质期

可在室温下(15-25°C)干燥保存 18 个月。长期保存时需置于 2-8°C。

五、需要准备的材料和工具

- 无菌生理盐水
- 洁净的镊子和剪刀
- 匀浆机、均质袋或一次性研磨棒
- 微量移液器(100-1000 μ L, 10-100 μ L)
- 无 DNase/RNase 的灭菌离心管(1.5 mL 或 2 mL)
- 无 DNase/RNase 的灭菌吸头
- 涡旋振荡器
- 离心机 (转速 \geq 10,000 rpm)

六、从动物组织中快速提取病原基因组 DNA 的方法

样本前处理:

- (1) 虾苗、鱼苗、动物组织 (例如大虾组织、鱼组织、丰年虫幼虫、软体动物组织等) 样本: 取约 3~5 g 样本放入均质袋中, 加入 3 倍体积生理盐水, 充分研磨样本。

(2) 成虫：取 5~10 条青虫(红虫)样本，每条青虫剪取 2~3 cm，放入均质袋中，加入 3 倍体积生理盐水，充分研磨样本。

(3) 虾片样本：取约 2~4 g 放入均质袋中，加入 4 倍体积生理盐水，充分研磨样本。

(4) 养殖水样本：用滤纸过滤杂质，再用孔径 0.22 μm 水系滤膜（水系滤膜不易堵塞）进行过滤（滤膜可以截留细菌性病原体如 EHP、弧菌等），过滤 1 L 以上养殖水后，取出滤膜，剪成小块后放入离心管中，加入生理盐水没过滤膜，涡旋震荡。

核酸提取：

1. 用巴氏吸管吸取匀浆液，滴入 4 滴（约 200 μL）匀浆液至 1.5 mL 离心管中，加入 400 μL 溶液 1 至离心管中，振荡混匀 30 秒。室温放置 5-10 分钟，10,000 rpm 离心 3 分钟去除杂质。

2. 取出离心柱(套管)，尽可能多的转移前一步上清液至柱子中（注意不要吸到沉淀物），10,000 rpm 离心 1 分钟。

3. 倒弃滤液后把柱子套回收集管中，加入 500 μL 溶液 2 至柱子中，10,000 rpm 离心 1 分钟。

4. 重复第 3 步操作一次。

5. 倒弃滤液后把柱子套回收集管中，10,000 rpm 离心 2 分钟，甩干柱子。

6. 将柱子转移至新的 1.5 mL 离心管，加入 100 μL 溶液 3 至柱子的膜中央。室温静置 1 分钟，10,000 rpm 离心 1 分钟。

7. 弃去柱子，把 DNA/RNA 保存于-20℃，长期保存于-80℃。

七、常见问题解答

该列表可能有利于您解决在提取过程中所碰到的问题。若您对试剂盒存在疑问或有良好的建议，又或者您在分子生物学实验中碰到问题，都请您联系我们。我们将竭尽所能为您排忧解难。

现象	原因	解决方法
核酸产量低或无	样品被反复解冻	避免反复冻融样品。推荐使用新鲜样品或只解冻过一次的样品。
	样品中病原浓度太低	对样品进行浓缩或提高样品的用量。
	样品匀浆不充分或裂解不充分	充分匀浆样品，适当延长裂解时间。
核酸下游应用结果不理想	核酸浓度太低	减少洗脱时洗脱液的用量以提高核酸的浓度。
	核酸产量太低或无	参见上面
	乙醇污染	确保按照说明书中的条件进行操作，如空柱离心时速度确保大于等于 10,000rpm，离心时间为 1min。

若以上的解答还是无法解决您的问题，请您联系我们。

八、企业信息

广州双螺旋基因技术有限公司

网址：www.dhelix.cn

电话：020-85671013

传真：020-34037175

地址：广州国际生物岛螺旋四路 7 号标准产业单元二期第三栋第三层 302 单元