

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

一、简介

水生动物病原体基因组 DNA/RNA 提取试剂盒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/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，而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

071121M	
组分	含量
管A	48 个
管B	96 个
溶液1	23mL
溶液2	1.4mL
溶液3	20mL
溶液4	35mL
溶液5	15mL
溶液6	30mL
说明书	1 份

注意：溶液 5 在初次使用前加入 60mL 无水乙醇，并于室温保存。

四、保质期

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

五、需要准备的材料和工具

- 无菌生理盐水
- 无水乙醇
- 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(1.5mL 或2mL)
- 无DNase/RNase 的灭菌吸头
- 涡旋振荡器
- 离心机 (转速 \geq 10,000rpm)

六、从动物组织中快速提取病原基因组 DNA 的方法

样本处理：

- (1) 虾苗、鱼苗、动物组织 (例如大虾组织、鱼组织、丰年虫、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 3~5 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 μ m 水系滤膜（水系膜不易堵塞）进行过滤（滤膜可以截留细菌性病原体如 EHP、孤菌等），过滤 1L 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. 取巴氏吸管吸取匀浆液，滴入 4~6 滴匀浆液至 1.5 mL 离心管中（或用移液器吸取 200 μ L 匀浆液至 1.5 mL 离心管中），加入 400 μ L 溶液 1 至上清液中，再加入 25 μ L 溶液 2，涡旋混匀 30 s，于 55 $^{\circ}$ C 水浴 5-10min 裂解病原，10,000rpm 离心 3min。
2. 小心吸取 400 μ L 上清液至一支新的 1.5 mL 离心管中，加入 220 μ L 溶液 3，涡旋混匀，加入 220 μ L 无水乙醇，最高速度涡旋以充分混匀。
3. 把管 A 装在管 B 中，将前一步的 700 μ L 上清液转移至管 A 中，10,000 rpm 离心 1 min。
4. 丢弃管 B，把管 A 装回新的管 B 中，加入 500 μ L 溶液 4 至管 A 中，10,000 rpm 离心 1 min。
5. 倒弃管 B 中的滤液，把管 A 装回管 B 中，加入 700 μ L 溶液 5 至管 A 中，10,000 rpm 离心 1 min。
6. 倒弃管 B 中的滤液，把管 A 装回管 B 中，10,000 rpm 离心 2 min。
7. 把管 A 装在新的 1.5 mL 离心管中，加入 100 μ L 预热至 55 $^{\circ}$ C 的溶液 6 至管 A 中，室温静置 3min，10,000rpm 离心 1min，所得溶液即为病原基因组核酸溶液。若暂时不用，于 -80 $^{\circ}$ C 储存。

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。
	洗涤液没有加入乙醇稀释	初次使用前，洗涤液必须加入无水乙醇进行稀释
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