

## 水生动物病原体核酸提取纯化试剂使用说明书

【产品名称】水生动物病毒 DNA/RNA 提取纯化试剂盒。

英文名称: Surbiopure® Viral DNA /RNA aquatic Kit。

【包装规格】48T/盒 96T/盒。

【适用范围】鱼、虾、蟹等水生动物。

【原理】样本与病毒裂解缓冲液混合,使得病毒破碎并将核酸释放。在裂解缓冲液中纳米磁珠颗粒通过表面修饰的功能基团能与游离的 DNA/RNA 特异性的结合,形成磁珠-DNA/RNA 复合物。在外磁场力的作用下,将磁珠-DNA/RNA 复合物转移到洗涤缓冲液中,洗去多余的杂质。再在外磁场力的作用下转移到洗脱缓冲液中,将 DNA/RNA 洗脱回收。

【组成成份】

货号	Sup011607-1(16 机型)	Sup011607-2(32 机型)	主要成分
试剂盒规格	48T	96T	
Buffer MVN	50mL	100mL	盐酸胍与 Tris 缓冲液
Buffer WA			高盐溶液
Buffer WB	1T/条	16T/板	70%无水乙醇
Buffer DE	预封装 8T/排*6 排	预封装板 6 块	低盐溶液
磁珠			羟基磁珠溶液
蛋白酶 K	1mL	2mL	蛋白酶 K
磁力套	12 条	12 条	无 RNase、DNase
说明书		1	

【储存及有效期】

- 1、试剂盒可在室温保存。
- 2、试剂盒有效期为 12 个月,请在有效期内使用。

【适用设备与仪器】

全自动核酸提取仪。

【样本要求】

A. 虾苗、鱼苗、动物组织(例如青虫、丰年虫、去壳丰年虫卵、大虾组织、鱼组织、软体动物组织等)、未去壳的丰年虫卵(见注 1):

放入均质袋,充分碾磨(用钝器(例如塑料瓶))反复刮擦装有样本的均质袋表面,使样本被充分磨碎。取 10mg(米粒大小)~20mg(绿豆大小)碾磨后的匀浆液至离心管中(建议取样方法:剪去黄色枪头头部 2 厘米,移液枪调整 10-20ul 刻度,移液枪按压到第二档,枪头放入匀浆液中,缓慢松开拇指按压杆吸入匀浆液,在匀浆袋中刮去枪头外壁和枪头头部露出的匀浆液,然后移液枪移至离心管,按压至第一档打出匀浆液,枪头中剩余的匀浆液和枪头一起丢弃)。

注 1:未去壳的丰年虫卵样本:用适当方法去壳,然后再用研体充分碾磨。

B. 虾片样本:

取 10mg(约米粒大小,离心后样品斜面的中心约 0.15cm 高)虾片样本至离心管中,离心 5s,将样品离心至管底,观察样品大小,如果取样量超过 10mg,可用移液枪吸走多余样品。

C. 养殖水样本:

用孔径 0.22µm 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、弧菌(含 EMS)等),过滤 500mL 以上养殖水后,取出滤膜,剪成小块后放入离心管中。

### 【操作方法】

- 1、将室温放置的 96 孔试剂板颠倒 3-5 次，有条件的用户可以在去除塑封膜前在 96 孔板离心机中短暂离心，若没有离心机也可以手甩，避免挂液，影响实验结果。小心撕去塑封膜，确认板子的方向。
- 2、往装有样品的离心管中加入 700 $\mu$ L 裂解液(虾片样本加入 1.4mL)和 20 $\mu$ L 蛋白酶 K，剧烈震荡，使用样品充分接触裂解液(如果此时液体有粘稠感，可以继续加入 200-700 $\mu$ L 裂解液，并混匀，虾片样品混匀后需观察是否混匀充分，如果管底还有虾片未震散，需用移液器吹打混匀)，65 $^{\circ}$ C 静置 5~10min(虾片和养殖水样本建议裂解 10min)。
- 3、在 96 孔板的 1/7 孔中各加入 700 $\mu$ L 步骤 2 中裂解上清产物。(避免大块组织或者沉淀，可选择离心)
- 4、将 96 孔板放入全自动核酸提取仪的指定位置中，装上磁棒护套。

提取程序

编号	孔位	名称	等待时间 (Min)	混合时间 (Min)	吸磁时间 (Sec)	体系 ( $\mu$ l)	混合速度	加热设置	温度 ( $^{\circ}$ C)
1	2	移磁	0	0	60	600	中	关闭	0
2	1	裂解	0	10	60	700	中	开启	70
3	2	洗涤 1	0	1	40	650	中	关闭	0
4	3	洗涤 2	0	1	40	650	中	关闭	0
5	4	洗涤 3	0	1	40	700	中	关闭	0
6	5	洗涤 4	0	1	40	800	中	关闭	0
7	6	洗脱	1	5	45	80	中	开启	70
8	2	弃磁	0	1	0	600	中	关闭	0

- 5、仪器程序运行结束后，将 6/12 中的核酸 (DNA&RNA) 转移至干净的无菌无核酸酶离心管子中备用，如不急需使用，可以将其放入-20 $^{\circ}$ C 冻存。

### 【产品性能参考数值】

提取灵敏度：以肝炎病毒为例，HBV-DNA,50IU/mL；HCV-RNA，100IU/mL。

### 【产品的局限性】

- 样本：本试剂盒不适用全血样本。  
 样本量：提取的最适合样本量不得超过 200 $\mu$ L。  
 灵敏度：需要高灵敏度的 PCR 检测试剂盒配合。

### 【注意事项】

- 1、Buffer WA 和 Buffer WB 按要求加入无水乙醇 (分析纯)。
- 2、如果室温过低，Buffer MVN 可能会有少许晶体析出或变浑浊，只需将其盖子拧紧放入 55 $^{\circ}$ C 的水浴中预热 5-10min，确认溶液澄清后再使用，对提取效果无影响。
- 3、上述的程序适用于 MyPure-32 全自动核酸提取仪，如果用户使用其他品牌的核酸提取仪，需根据实际使用的仪器性能进行调整程序。
- 4、实验过程中用的耗材均是 RNase-Free 的。
- 5、试剂可能刺激眼睛、皮肤或黏膜，一旦直接接触，请立即用大量清水冲洗。

### 6、【基本信息】

生产企业：广州赛百纯生物科技有限公司  
 地址：广州市黄埔区联浦街 16 号 402  
 24 小时服务热线：18926136067  
 邮编：510600      网址：<http://www.surbiopure.com>