



动物病毒检测用核酸 (DNA/RNA) 提取试剂盒

本试剂盒适用于动物体液、分泌物及组织中病毒核酸的提取，可同时提取样本中的 DNA 和 RNA。提取的核酸可直接用于后续的 PCR 或 RT-PCR 实验。

序号	试剂盒组成	规格	保存
1	消化液	26 mL	室温
2	抑制物去除液	25 mL	室温
3	漂洗液	10 mL	室温（第一次使用前加入 40mL 乙醇，并标记）
4	蛋白酶 K	20 mg/mL	室温运输，2-8°C 保存，不要反复冻融
5	Nuclease-free H ₂ O	28 mL	室温
6	核酸吸附柱和收集管	50 套	室温

1、样品采集及处理：为保证实验结果准确，样品应为新鲜采集，2-8°C 运输，不要反复冻融。

1.1 血清、血浆和淋巴液等无细胞体液样本采集：

血清采集：采集血液后应立即置于 4°C 冰箱中待血清析出。

血浆采集：需用 EDTA 抗凝剂抗凝血分离。

1.2 拭子样本采集：采集拭子样本时采用专用拭子采集口咽分泌物、体液分泌物

1.3 组织样本采集：气管、肺、喉头、脾脏、扁桃体、肾脏和淋巴结等。

组织样品处理：选取病变明显的组织块剪取样品约 20mg（备注：a. 可选择多部位剪碎混匀后再取。b. 1 粒大米重约 20mg。c. 请勿使用过量组织，影响提取效果），依次加入 150 μ L 消化液、450 μ L Nuclease-free H₂O 和 20 μ L 蛋白酶 K，用眼科剪反复多次剪碎混匀或用电动匀浆器匀浆，置 56°C 水浴中消化 15-30 分钟（视消化情况）后离心取上清。

2、病毒 DNA/RNA 提取：在温度稳定（15-25°C）、符合核酸提取净化通风条件的环境中进行。

2.1 将上述处理后样本离心取上清 100 μ L 转入 1.5mL 离心管，加入 300 μ L 消化液，立刻涡旋振荡充分混匀。室温(15-25°C)放置 10 分钟，期间振荡混匀一次；已消化过的组织上清不必放置 10 分钟，可直接进入下面步骤。

2.2 加入 250 μ L 无水乙醇，立刻涡旋振荡充分混匀。环境温度高于 25°C 时乙醇需要冰上预冷后再加入。

2.3 将上述混合物加入一个核酸吸附柱中（吸附柱放入收集管中）8000rpm(~6000 \times g)离心 30 秒，弃废液。

2.4 加 500 μ L 抑制物去除液，8000rpm(~6000 \times g)离心 30 秒，弃废液。

2.5 加入 500 μ L 漂洗液（请确认已加入无水乙醇!），8000rpm(~6000 \times g)离心 30 秒，弃废液。

2.6. 重复步骤 2.5 一次。

2.7. 弃去收集管废液，13000rpm(~12000 \times g)空柱离心 3 分钟，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制 PCR 反应。

2.8. 取出核酸吸附柱，放入一个无核酸酶的离心管中，在吸附膜的中间部位加 50 μ L Nuclease-free H₂O，室温放置 1 分钟，13000rpm(~12000 \times g)离心 1 分钟。

2.9. 离心管中所得液体即为检测所需的样本 DNA 或 RNA。核酸提取完后请立即实验。如需短期保存，DNA 病毒核酸可以存放可以放置在 -20°C 冰箱；RNA 病毒核酸立刻短期放置在 -70°C 超低温冰箱。