

Vero 残留 DNA 检测试剂盒（qPCR-荧光探针法）说明书

本试剂盒专用于科研，而非用于诊断

Cat. No. HG-VE001

产品简介

Vero 残留 DNA 检测试剂盒是用于定量检测各种生物制品的中间品、半成品和成品中 Vero 宿主细胞 DNA 残留量的专用试剂盒。本试剂盒利用 TaqMan 荧光探针原理，定量检测样本中 Vero 残留 DNA。检测快速，专一性强，性能可靠，最低检测限可以达到 fg 水平。

试剂盒配套的 Vero DNA 定量参考品，已溯源至国家标准品。

本试剂盒的检测范围为：3fg/μL~3 × 10⁵ fg/μL。

规格

100 Reactions

试剂盒组成

表 1 试剂盒组分及储存条件

组分装量	装量	储存条件
2×qPCR Reaction MIX	1.6mL×1 管	-20°C及以下避光保存
Vero Primer&Probe MIX	550μL×1 管	
定量参考品 1 (3 × 10 ⁵ fg/μL)	300μL×1 管	
定量参考品 2 (3 × 10 ⁴ fg/μL)	300μL×1 管	
定量参考品 3 (3 × 10 ³ fg/μL)	300μL×1 管	
定量参考品 4 (3 × 10 ² fg/μL)	300μL×1 管	
定量参考品 5 (3 × 10 ¹ fg/μL)	300μL×1 管	
定量参考品 6 (3 fg/μL)	300μL×1 管	
DNA 稀释液	1mL×3 管	

有效期

规定储存条件下 12 个月。

试验所需自备器材

荧光定量 PCR 仪	1000μL, 100μL, 10μL 移液枪
1.5mL 无菌离心管	1000μL, 100μL, 10μL 无菌低吸附带滤芯吸头
无菌无酶八联管或 96 孔 qPCR 板	

适配机型 (包括但不限于)

- ◆ ABI QuantStudio 3 qPCR 仪
- ◆ 罗氏 LC96 Real-Time PCR System
- ◆ ABI 7500 Real-Time PCR System
- ◆ 伯乐 CFX Opus96 Real-Time PCR System
- ◆ 鲲鹏 ArchimedTM X Real-Time PCR System

试验流程

qPCR 反应液的制备和加样

1、根据所需检测的标准样品和待测样品数量 (一般做 3 组复孔), 计算反应所需孔数:

$$\text{反应孔数} = (6 \text{ 组参考品} + 1 \text{ 个无模板对照 NTC} + \text{待测样品}) \times 3$$

2、根据反应孔数计算本次所需的 Vero qPCR MIX 总量:

$$\text{Vero qPCR MIX} = (\text{反应孔数} + 2 \text{ 或 } 3) \times 20\mu\text{L} \quad (2 \text{ 或 } 3 \text{ 为操作损失量})$$

3、将所用试剂置于冰上融化, 轻微振荡混匀, 按表 2 所示配制 Vero qPCR MIX。

表 2 Vero qPCR MIX 配制表

组分	单个反应量
2 × qPCR Reaction MIX	15μL
Vero Primer & Probe MIX	5μL

4、将所需试剂置于冰上融化, 轻微振荡混匀, 按表 3 所示加样 (总体积 30μL):

表 3 各反应孔加样示例

模板	模板量	所需 qPCR MIX 量
参考品	参考品 1-6 各 10μL	20μL
无模板对照 NTC	DNA 稀释液各 10μL	20μL
待测样品	待测样品各 10μL	20μL

5、试验可使用无菌无核酸酶的八联管或者 96 孔板进行反应，需去除反应体系中的气泡，并离心至管底准备反应。

qPCR 反应程序和参数设置

以 BIO-RAD 公司 CFX96 qPCR 仪为例。

1、设置反应程序：

2、创建实验反应板，点击 Select Fluorophores 选择荧光 FAM；在反应板图表中，选择样品孔，在 Sample Type 中下拉选择 Unknown，勾选荧光 FAM，Target Name 命名为 Vero；输入每个样品的重复次数及 Sample Name。

在反应板图表中，选择标曲孔，在 Sample Type 中下拉选择 Standard，勾选荧光 FAM，Target Name 命名为 Vero；输入每个稀释梯度的重复次数及 Sample Name。并且分别在 STD1，STD2，STD3，STD4，STD5，STD6 的 Concentration 一栏赋值为 300000、30000、3000、300、30、3（单位为 fg/μL）。

3、点击 Run 界面的“Start Run”按钮进行 PCR 测定。

Stage1	污染消化	Reps: 1	50°C	2min
Stage2	预变性	Reps: 1	95°C	20s
Stage3	循环反应	Reps: 40	95°C	3s
			60°C	30s

程序 Stage3 中 60°C 30s 处设置为荧光收集

qPCR 结果分析

以 BIO-RAD 公司 CFX96 qPCR 仪为例。

1. 点击资料分析视窗 Quantitation，可读取标准曲线的斜率 (Slope)、截距 (Intercept)、扩增效率 (Effect)、 R^2 。
2. 在视窗 Quantitation Data 中，SQ Mean 一栏可读取无模板对照 NTC、待测样本的检测值，单位为 fg/μL。
3. 阴性对照 NTC 和 NCS 的 CT 值都应大于标曲最低浓度的 CT 值或根据实验室自身验证结果设定标准。

注意事项

- 1、本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断。
- 2、试剂盒必须在有效期内使用。
- 3、试剂盒内所有组分建议在低温环境融化后使用。
- 4、只有严格遵守说明书的操作方法，全部使用本试剂盒配套的试剂才能保证最佳检测效果。
- 5、注意在不同加样步骤间及时更换吸头，避免交叉污染，避免长时开盖。
- 6、最终的试验结果与试剂的有效性、操作者的操作方法及试验环境密切相关。
- 7、公司只对试剂盒本身负责，不对因使用该试剂盒所造成的样本消耗负责，请使用者使用前充分考虑到样本的可能使用量，预留充足的样本。

免责声明

在所有情况下，本公司对此产品所承担的责任仅限于产品价值本身。

