宿主细胞残留 DNA （磁 珠 法） 样本前处理试剂盒说明书

本试剂盒专用于科研，而非用于诊断

Cat. No. HG-CL100

产品简介

本试剂盒用于生物制品样本前处理，精准抽提各种生物制品中宿主细胞残 DNA 。本试剂盒适用于多种基质缓冲溶液， 有效提取纯化微量的 DNA。可与谱新生物宿主细胞（CHO、E.coli、Vero、Human、质粒、SV40LTA &EI A 等）DNA（qPCR）检测试剂盒配合使用。

规格

100 人份

试剂盒组成

序号	组分	规格	存储条件
1	裂解液	9mL x 1 瓶	2-8°C
2	洗涤液	30mL × 1 瓶	
3	洗脱液	12mL × 1 瓶	
4	磁珠	1mL × 2 管	
5	蛋白酶 K	1mL × 1 管	
6	糖原	800μL×2 管	-20°C及以下
7	酵母 tRNA	50μL×1 管	

有效期

规定储存条件下 12 个月。

试验所需自备器材和试剂

无水乙醇（分析纯）、1×PBS 缓冲液（无 Mg^{2+} 和 Ca^{2+}，除菌过滤）、异丙醇（分析纯）

涡旋仪、磁力架、离心机、水浴锅 / 金属浴、移液器

1.5mL 无菌低吸附离心管、低吸附吸头、一次性手套

试验流程

试验准备

1、每次试验需要在干净的试剂瓶中用无水乙醇和灭菌过的超纯水配制成新鲜的 80% 乙醇。

2、单个样本的结合液的准备：9 μL 糖原 +0 .2 μL 酵母 tRNA（如果提取酵母 DNA，结合液中不加酵母 tRNA）。注：单次吸液量不少于 3μL。

3、洗涤液准备：洗涤液使用前加 30mL 的无水乙醇，充分混匀后使用，同时做好标记，每次使用后将瓶盖盖紧，以保持瓶中的无水乙醇含量。

样本准备

1、样本稀释：如果待检测样本是生物制品纯化过程中的上游中间样本，可能含有较高的 DNA 含量。为了保证检测的准确性，使样本的检测值在标准曲线线性范围之内，可以用 1× PBS 对高 DNA 含量样本进行适当比例稀释后再进行样本提取， 一般可考虑将高 DNA 含量样本稀释 100 倍或 1000 倍。

2、干粉样本：一般可考虑将干粉样本稀释成 10mg /mL 或 100mg/mL，再进行提取操作。

3、pH 值要求：使用氢氧化钠或盐酸调整样品的 pH 至中性（pH6. 0~ 8 .0）进行提取。

4、平行处理：每个样本建议进行三次 DNA 提取处理。

5、样品加标：待处理样品的 DNA 加标浓度为样品核酸浓度的 2- 10 倍为宜，建议样品加标体积不超过待处理样本体积的 1/10。

6、阴性对照：每次试验需用无模板稀释液（1× PBS）与待测样本一同处理。

操作流程

1、每个待处理样本取 100 μL 于 1.5 mL 离心管中， 待进一步提取。

2、每个 100μL 样本中加入 25 μL 裂解液和 10 μL 蛋白酶 K，涡旋震荡 30 s，瞬时离心，65 °C孵育 15 min 。

提取步骤

1、孵育完成后将离心管瞬时离心，之后依次加入 9.2 μL 结合液、50 μL 裂解液和 150 μL 异丙醇，20 μL 磁珠（磁珠使用前需充分混匀，确保每次加入的磁珠量均一致，以免造成 DNA 得率不一致），涡旋振荡 5min，快速离心 10 s 。

2、将离心管置于磁力架，轻轻地左右转动，待磁珠聚集于贴近磁力架的管壁后，保持离心管固定于磁力架上，用移液枪吸去上清，注意不要触碰磁珠。

3、加入 500μL 洗涤液（ 使用前请先检查是否已加入无水乙醇），涡旋振荡 30 s，确保磁珠分散，离心管壁无聚集磁珠。快速离心 10s 后将离心管重新置于磁力架上轻轻地左右转动，待磁珠聚集于贴近磁力架的管壁后，静置 1 min，用移液器小心吸去上清。

4、加入 500μL 新鲜配制的 80 % 乙醇，涡旋振荡 30 s，确保磁珠分散，离心管壁无聚集磁珠。快速离心 10 s 后将离心管重新置于磁力架上轻轻地左右转动，待磁珠聚集于贴近磁力架的管壁后，静置 1 min，用移液器小心吸去上清。

5、为保证尽量吸出残留乙醇，可将离心管快速离心 10s 后，置于磁力架上用 10μL 移液器吸出残留乙醇。

6、打开管盖室温（18-25°C）干燥 3- 5min（干燥时间依具体情况进行延长或缩短；肉眼随时注意观察，避免磁珠过分干燥）。

注： 干燥过程中磁珠过干或有乙醇残留都会影响样本回收率。干燥也可选择鼓风干燥，一般建议鼓风干燥 2min。

7、将离心管从磁力架取下，每管加入 100μL 洗脱液，涡旋振荡 1min，70°C孵育 7min，期间每 2-3 min 涡旋混匀一次。

8、 孵育完成后，将离心管高速离心 1min，然后静置于磁力架上，待磁珠分离后，用移液器小心转移上清到新的 1.5 mL 离心管中。

注意事项

1、实验开始前，为减少污染建议用酒精擦拭台面、移液器、枪头盒等表面。

2、注意在不同加样步骤间及时更换吸头，避免交叉污染。

3、所有试剂需平衡至室温（18-25°C），再进行实验。

4、在磁珠洗涤或洗脱过程中，每次振荡混匀后，都要短时间快速离心，以保证没有磁珠液附着在离心管管盖和管壁上。

5、尽量在当天完成样本前处理纯化就立即进行后续 DNA 检测，以保证检测结果的准确性。

6、试剂应储存于规定环境下，不同批次试剂盒试剂不建议混用。

7、最终的试验结果与试剂的有效性、操作者的操作方法及实验环境密切相关。

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。

©2024 谱新生物 Hillgene. All right reserved. Ver.3.2406
江苏谱新生物医药有限公司
A. 苏州市吴中区吴中大道 1463 号越旺智慧谷 4 号楼
T.400 900 1882 W.www.hillgene.com