

宿主细胞残留 DNA 样本前处理试剂盒 (磁珠法) 说明书

货号: DFTK-001

在实验前请完整阅读本说明书, 务必重视注意点和常见问题!

版本: 1.0

仅供研究用

上海骏民科学仪器有限公司

试剂盒基本信息

- 【产品名称】宿主细胞残留 DNA 样本前处理试剂盒（磁珠法）
- 【货号】DFTK-001
- 【规格】100T
- 【效期】规定储存条件下 24 个月，具体详见试剂盒标签

试剂盒简介说明

宿主细胞残留 DNA 样本前处理试剂盒（磁珠法）用于生物制品样品的前处理，可稳定高效地获得样品中的微量宿主细胞 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。可与各个探实生物宿主细胞（CHO、E.coli、毕赤酵母、MDCK、Sf9、质粒等）残留 DNA 检测试剂盒配合使用。

本试剂盒可以手动操作，也可以通过自动提取仪实现样品的自动处理。

- 【自备仪器】水浴锅、涡旋混合仪、磁力架等
- 【自备试剂】5M NaCl、无水乙醇、1M HCl 或 NaOH

试剂盒组分

序号	组分	产品号	装量	储存条件
I	PK Buffer	TQ1001	12 mL×1 瓶	室温
	Binding Buffer	TQ1002	40 mL×1 瓶	
	Wash Buffer I	TQ1003	12 mL×1 瓶	
	Wash Buffer II	TQ1004	12 mL×1 瓶	
	EL Buffer	TQ1005	10 mL×1 瓶	
	DL Buffer	TQ1006	1.5 mL×2 管	
II	Biobeads	TQ2001	1.0 mL×1 管	2-8℃
	Glycogen	TQ2002	1.0 mL×1 管	-20℃
	Proteinase K	TQ2003	1.5 mL×1 管	

【实验前准备】

试剂准备

- 分别在 Wash Buffer I 和 Wash Buffer II 中各加入 28 mL 的无水乙醇。
- 加入后做好标记，室温保存；注意开盖时间，防止乙醇挥发。

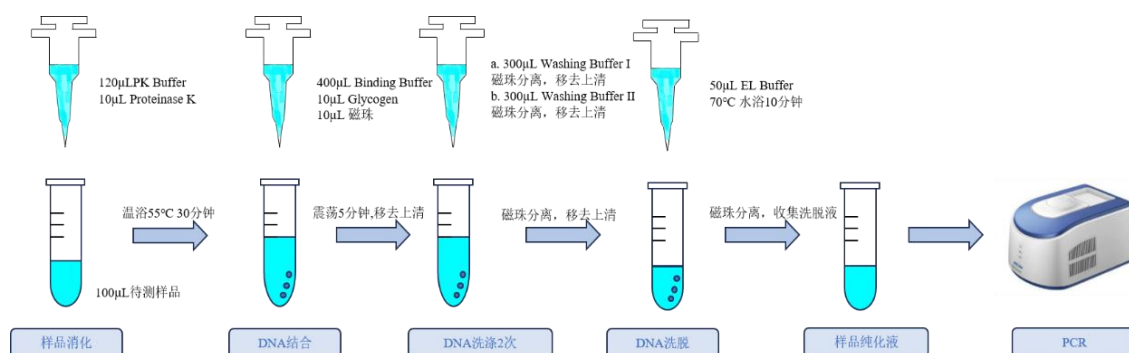
样品准备

- 对于一般样品，可在①样品消化步骤中加入 10 μ L 5M NaCl 提高回收率。
- 对于过程样品，用本试剂盒中的 DL Buffer 进行预稀释，保证样品的检测值在试剂盒的线性范围之内，建议在标准曲线的 0.6-0.06 $\text{pg}/\mu\text{L}$ 。
- 对于含有特殊缓冲液样品，可能存在提取抑制，在能满足产品质量标准及标准曲线检测范围的前提下可考虑进行适当比例的稀释，建议稀释 2-5 倍。
- 对于非中性样品，可考虑用 1M HCl 或 NaOH 调整样品的 pH 至中性后再进行提取操作，建议样品 pH 在 6.0-8.0 范围内。
- 对于原液样品，一般检测值低于标准曲线最低点或定量限度，不建议稀释；若回收率仍低于接受值，可联系技术支持。

注意事项

- 提取前检查环境，建议每次提取完成后进行紫外照射，建议每 3 天对操作台和移液器喷洒 DNA 去除剂和 75%酒精。
- 提取过程中，避免液体溅出的同时要避免手套接触管盖，否则容易污染样品或导致回收率偏高。
- 洗脱时避免磁珠过于干燥，以免造成 DNA 与磁珠无法很好的分离。

【实验操作流程】



试剂盒操作步骤

①样品消化

- 取 100 μL 待测样本至 1.5 mL 离心管中，标记为 SAM-1。
- 加入 120 μL PK Buffer，10 μL Proteinase K，振荡混匀，55°C 水浴或金属浴 30-60 分钟。

②DNA 结合

- Biobeads 磁珠悬浮液预先恢复至室温，使用前充分振荡混匀。
- 向消化完毕的离心管中，加入 400 μL Binding Buffer，10 μL Glycogen，振荡混匀 5 秒，在快速离心 10 秒后加入 10 μL 磁珠。
- 将以上样品离心管涡旋振荡 5 分钟，快速离心 15 秒后置于磁力架上。

③磁性分离

- 置于磁力架上约 3-5 分钟，等待磁珠完全分离，至溶液澄清。
- 用枪头缓慢移去上清，避免枪头接触磁珠，同时去除上清的过程中避免损失磁珠。

④洗涤

- 从磁性分离架上取下样品离心管，加入 300 μL Wash Buffer I，振荡 15 秒；快速离心 15 秒后置于磁力架上。
- 参考步骤③磁性分离操作，去除样品离心管中的全部上清。
- 从磁性分离架上取下样品离心管，加入 300 μL Wash Buffer II，振荡 15 秒；快速离心 15 秒后置于磁力架上。
- 参考步骤③磁性分离操作，去除样品离心管中的全部上清。

⑤洗脱

- 将除尽上清后的离心管开盖干燥约 3-5 分钟，干燥至磁珠无光泽。
- 取出离心管，加入 50-100 μL EL Buffer，涡旋振荡 60 秒，70°C 水浴 10 分钟，过程中可再振荡混匀 2-3 次。
- 参考步骤③磁性分离操作，转移样品离心管中的全部上清至新的离心管中，提取完成。

