

残留 DNA 样本前处理试剂盒

(单条预封装)

说明书

货号：1104197

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：A/1

仅供研究用

湖州申科生物技术股份有限公司

■ 试剂盒简介

SHENTEK®残留 DNA 样本前处理试剂盒(单条预封装)适用于生物制品中残留 DNA 检测的前处理。可有效分离纯化包括疫苗制剂在内的多种不同类型基质样品中微量宿主细胞 DNA。本试剂盒已将提取所用试剂提前灌装进 6 联孔中, 需配合前处理系统 SKRDP-32Pro 或 SKRDP-32P 使用, 实现灵活、便捷的样品自动化处理。

该前处理试剂盒可与 SHENTEK®宿主细胞(CHO、*E. coli*、Vero、酵母、NS0、Human、MDCK、Sf9&AcNPV、Hi5&AcNPV、质粒、SV40LTA&EIA 等) DNA qPCR 检测试剂盒配合使用。

■ 试剂盒组分

表 1.试剂盒组分

序号	组分	产品号	装量	储存条件
I	裂解液	NND028	5 mL × 1 瓶	室温
	样品稀释液	NND097	10 mL × 1 瓶	
II	6 联孔预封装条	NND078	1 条 × 16	2-8 °C
III	蛋白酶 K	NND023	500 μL × 1 管	-18 °C 及以下
	糖原	NND035	500 μL × 1 管	
	助沉剂I	NND003	25 μL × 1 管	

■ 规格

16 Extractions

■ 有效期

规定储存条件下 12 个月, 具体详见试剂盒标签。

■ 实验所需但试剂盒中未含材料

- 1M 的 HCl 或 NaOH (如需)
- 1000 μL, 100 μL, 10 μL 低吸附滤芯枪头
- 1.5 mL 低吸附离心管
- 6 连孔深孔板架 (货号: 1903101)
- 8 联管塑料护套 (货号: 1903102)

■ 相关设备

- 迷你离心机
- 前处理系统 SKRDP-32Pro 或 SKRDP-32P
- 漩涡震荡器
- 恒温水浴锅或金属浴
- 1000 μL , 100 μL , 10 μL 移液枪
- 超净台

■ 实验流程



■ 实验准备

每次实验前需预先完成以下工作:

1. 准备 65 °C的水浴或金属浴。
2. 根据实验需要从试剂盒中取出相应数量的预封装条, 轻甩预封装条并在桌面轻磕几下, 使试剂及磁珠均尽量集中到底部, 之后将其插入 6 连孔深孔板架上, 室温平衡 10 分钟以上。
 - 若预封装条在运输过程中发生倒置, 使用时发现有部分磁珠残留在封膜上时, 建议先将预封装条倒置, 静置约 10 秒后迅速正置, 如此反复几次, 直至大部分磁珠聚于管底为止。
 - 预封装条插入深孔板架上时, 如图 1 所示: 深孔板架的左上角应为切角, 预封装条需根据限位孔的位置进行摆放并注意卡紧, 此时 6 联孔预封装条孔壁上的序号从左到右依次为 1-6。

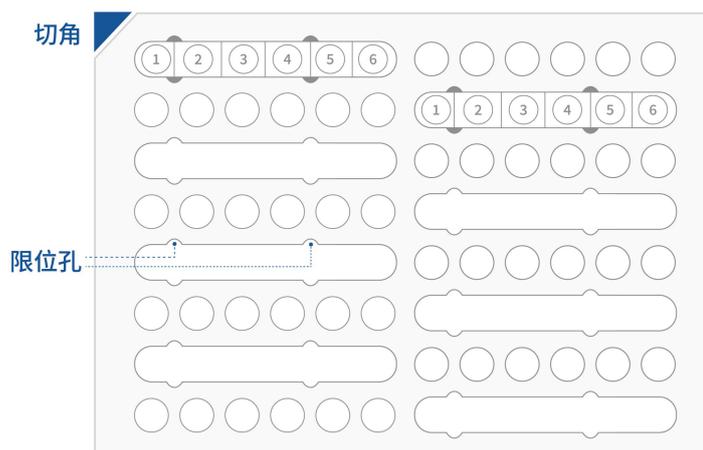


图 1. 预封装条插入深孔板架的正确排布

3. 蛋白酶 K 消化液的准备:

单个样品所需的蛋白酶 K 消化液 = 15 μ L 蛋白酶 K + 100 μ L 裂解液

- 使用前若发现裂解液出现结晶或沉淀, 应 37 $^{\circ}$ C 水浴, 待完全溶解后混匀使用。
- 蛋白酶 K 的用量可以根据经验进行适当调整。

4. 样品准备

- (1) 若待测样品为生物制品纯化过程中的上游中间品: 残留的 DNA 含量可能较高, 为保证检测结果的准确性, 需要将样品的检测值控制在标准曲线线性范围之内, 可以用样品稀释液对样品进行适当比例的稀释后进行提取。
- (2) 若样品为干粉状态: 建议用样品稀释液将样品溶解稀释至 10 mg/mL 或 100 mg/mL 后使用。
- (3) 若样品的 pH < 5.0 或者 pH > 9.0, 则会影响样品纯化处理效果, 此时可以用 1M 的 NaOH 或 HCl 调整样品的 pH 至 6.0-8.0 后提取 (如需)。
- (4) 阴性对照 (NCS): 取 100 μ L 样品稀释液作为 NCS 空白样品, NCS 需要与其他待测样品一起进行处理, 以评估样品处理过程是否存在交叉污染或环境污染。
- (5) 加标回收 (ERC): ERC 用来评估 DNA 提取的效率、回收率和准确度, 并可用 ERC 来评估验证分析方法和系统性能, 一般建议加标量设定在其无加标测试值的 2-10 倍为宜。

■ 样品消化

1. 向 1.5 mL 离心管中加入 115 μ L 蛋白酶 K 消化液, 然后加入 100 μ L 待测样品 (样品、阴性对照 NCS) 或 110 μ L 加标样品。

- 盖紧管盖并短暂涡旋，将样品与蛋白酶 K 消化液混匀，瞬时离心收集液体至管底。
 - 将离心管置于 65 °C 孵育 15-30 分钟或不孵育。
- 若样品基质简单，如 10⁶ 及以下细胞、稀释 10 倍及以上的疫苗过程样品（如，病毒原液、疫苗原液过程样品等）以及疫苗成品等可以不进行孵育直接进行提取。
 - 若样品基质复杂或样品的蛋白含量较高则需要进行 65 °C 孵育，孵育时间可根据实际情况进行调整。

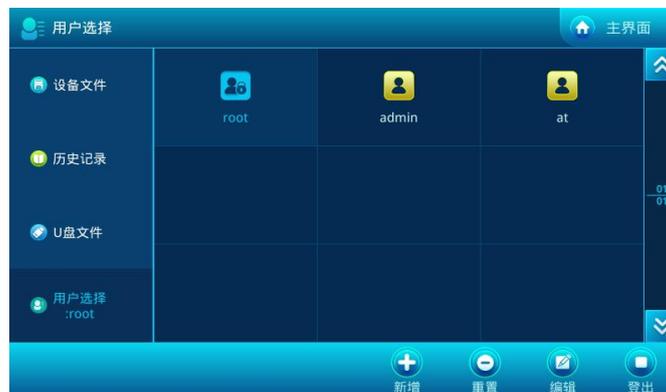
■ 提取准备

1. 仪器准备（以 SKRDP-32Pro 为例）

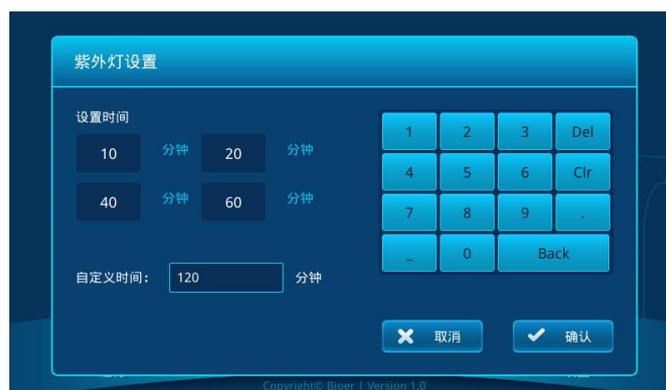
(1) 确认设备中所有实验耗材全部移除后开机自检；



(2) 点击运行，选择用户，输入密码，登录用户；



(3) 将前处理系统的紫外灯打开，工作 15-30 分钟；



2. 试剂准备（阴性区）

（1）助沉剂预混液的配制：

- a. 用样品稀释液将助沉剂I稀释 100 倍备用；
 - 为保证稀释准确性，助沉剂I稀释时最小取样量为 2 μL 。
- b. 单个样品所需助沉剂预混液 = 10 μL 糖原 + 10 μL 助沉剂I（稀释 100 倍）。

（2）将预封装条在桌面上轻磕几下，使得磁珠呈悬浮状，小心撕去 6 联孔预封装条的封膜，避免振动，防止液体溅出。

- 预封装条一旦启封后请尽快使用。

（3）在每个预封装条的 1 号孔（见图 2）加入上述 20 μL 助沉剂预混液。

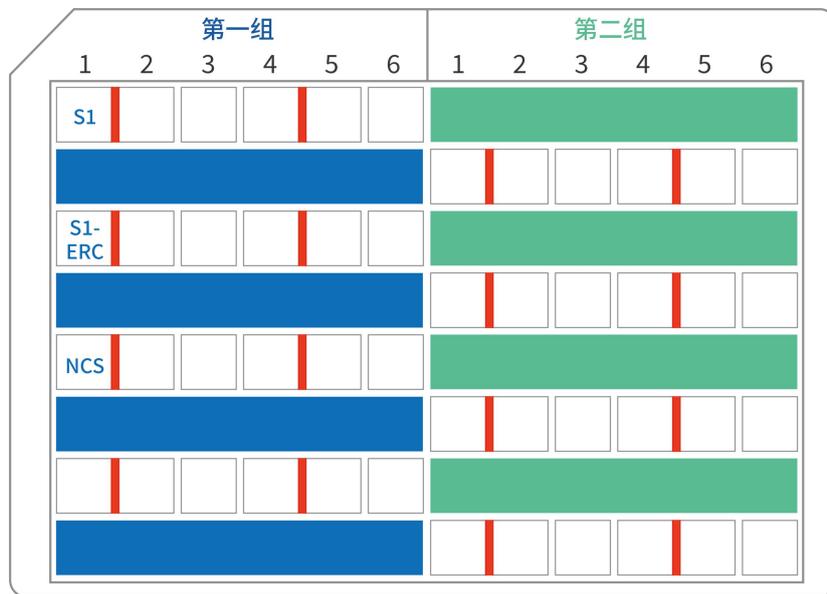


图 2. 深孔板架上预封装条的排布图

- 如图 2 所示，深孔板架上预封装条的排布情况应为：深孔板架的左上角为切角，红色标注处为限位器的位置，数字 1-6 为预封装条孔壁上的序号。

■ 加样及程序运行

1. 加样

- （1）将样品从水浴锅或金属浴中取出，室温条件下快速离心 30 秒或 14000 $\times g$ 及以上离心 10 分钟，取上清，全部加入预封装条的 1 号孔（见图 2）。
 - 若待测样品为过阴离子交换柱样品等其他复杂基质则建议进行 14000 $\times g$ 及以上离心 10 分钟的操作，简单基质的样品一般选择快速离心 30 秒即可。
- （2）将加好样的预封装条连同深孔板架一起平移到仪器内部，注意检查预封装条和深孔板都要卡紧，并保证板架的左上角为切角。（具体排布见图 2）。

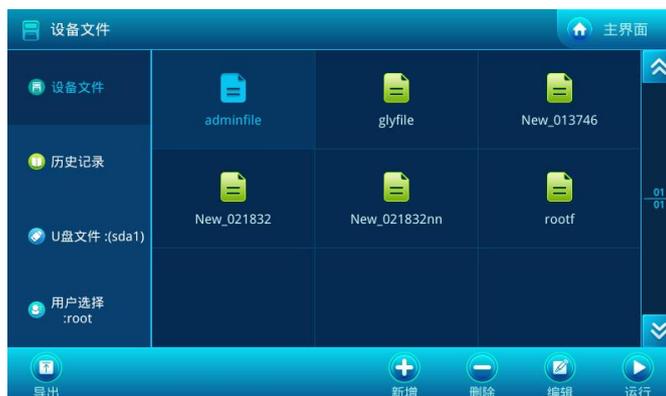
- 平移和卡紧时动作要轻，防止液体溅出。

2. 程序运行

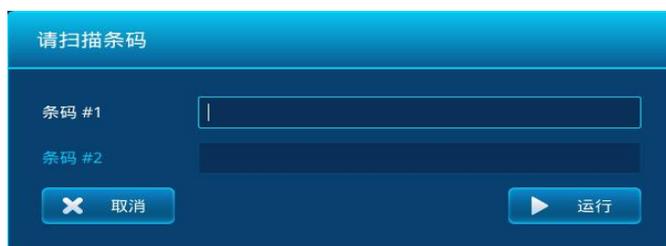
(1) 将 8 联管塑料护套插入磁头对应位置。



(2) 点击“运行”—选择“Pre-rHCD-197”程序—运行。



(3) 点击运行按钮后，扫描试剂盒条形码运行程序。



(4) 程序运行（耗时约 29 分钟）。





(5) 程序结束，发出“滴滴”声，立即取出深孔板，将预封装条的 5 号孔的溶液全部转移到新的 EP 管内，即获得样品纯化液。

- 预封装条 5 号孔的洗脱液体积为 100 μ L。

3. 仪器使用注意事项

- (1) 操作时环境温度建议不低于 22 $^{\circ}$ C，否则可能会导致回收效率偏低。
- (2) 仪器工作前及完成后需要紫外灭菌至少 15 分钟，并使用 75%酒精将仪器内壁擦拭干净，且两次提取实验间隔至少为 30 分钟。
- (3) 程序运行完毕后，需立即将样品洗脱液转移至干净的 EP 管内。

修订日期：2025 年 04 月 27 日

生效日期：2025 年 04 月 28 日

服务支持



湖州申科生物技术股份有限公司

www.shenkebio.com

地址：浙江省湖州市红丰路 1366 号 6 号楼

Email: Info@shenkebio.com

电话：400-878-2189