

宿主细胞残留 DNA 样本前处理试剂盒

（快速版）（磁珠法）

说明书

货号：1104201

在实验前请完整阅读本说明书，特别是注意要点和常见问题！

版本：A/0

仅供研究用

湖州申科生物技术股份有限公司

■ 试剂盒简介

宿主细胞残留 DNA 样本前处理试剂盒（快速版）（磁珠法）专为生物制品及其中间品的宿主细胞残留 DNA 样本快速前处理而设计，采用先进的磁珠法技术，结合优化的裂解液体系，能够高效、稳定、快速地从各类基质（包括含有硫酸软骨素或肝素等成分的基质样本）中提取微量宿主细胞残留 DNA，为后续的 DNA 定量分析提供高质量的样本。

搭配 rHCDpurify®前处理系统，可实现机内裂解与自动化前处理，操作便捷，可一键完成。同时也支持手动提取操作，灵活满足不同实验室的需求。提取的样品纯化液可与 SHENTEK®系列宿主细胞残留 DNA 检测试剂盒搭配使用，为后续检测提供有力支持。

■ 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	洗涤液 A	NND014	30 mL × 1 瓶	室温
	裂解液I	NND102	20 mL × 1 瓶	
	裂解液II	NND103	60 mL × 1 瓶	
	洗脱液	NND018	10 mL × 1 瓶	
	稀释液	NND021	10 mL × 1 瓶	
II	磁珠	NND101	1 mL × 3 管	2-8 °C
III	蛋白酶 K	NND023	500 µL × 4 管	-18 °C及以下

■ 规格

100 Extractions

■ 有效期

规定储存条件下 24 个月，具体详见试剂盒标签。

■ 实验所需但试剂盒中未含材料

- 无水乙醇（分析纯）
- 一次性手套
- 1000 µL，100 µL，10 µL 低吸附滤芯枪头
- 1.5 mL 低吸附离心管
- 96 深孔板和塑料套管（如需）

■ 相关设备

- 迷你离心机
- rHCDpurify® 前处理系统或磁性分离架
- 漩涡振荡器
- 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



备注：以上操作流程仅供参考，具体可根据实际情况进行调整并验证。

■ 实验准备

1. 开启新试剂盒时需完成以下工作：

- (1) 在新开启的洗涤液 A 中加入 40 mL 的无水乙醇。
- (2) 干净的试剂瓶中用无水乙醇和超纯水配制 70%乙醇溶液，标记为洗涤液 B。

备注：配制后的洗涤液应密封，室温保存，防止乙醇挥发。

2. 每次手工提取实验前需预先完成以下工作：

- (1) 准备好 2 个金属浴温度，55 °C和 70 °C。

3. 磁珠平衡：

将磁珠从 2-8 °C冰箱取出，在漩涡振荡器充分振荡 5-10 秒，快速离心，室温放置至少 10 分钟以平衡磁珠。

4. 样品准备

- (1) 样品稀释：①如果待检测样品是生物制品纯化过程中的上游中间样品，可能含有较高的 DNA 含量。为了保证检测的准确性，使样品的检测值在标准曲线线性范围

之内。②若样品为干粉状态，可以用稀释液将干粉样品进行溶解，再进行下一步操作，一般可考虑将干粉样品稀释成 10 -100 mg/mL。

备注：如果稀释或复溶了样品，则用稀释液作为阴性对照。

(2) 配制样品预混液：在 1.5 mL 低吸附离心管加入 200 μ L 裂解液I + 20 μ L 蛋白酶 K + 100 μ L 待测样品。充分振荡混匀，快速离心。

备注：①低蛋白浓度或无蛋白类样品可考虑不加蛋白酶 K。

②为了确保结果的准确性，建议每个样品平行进行三次 DNA 提取。

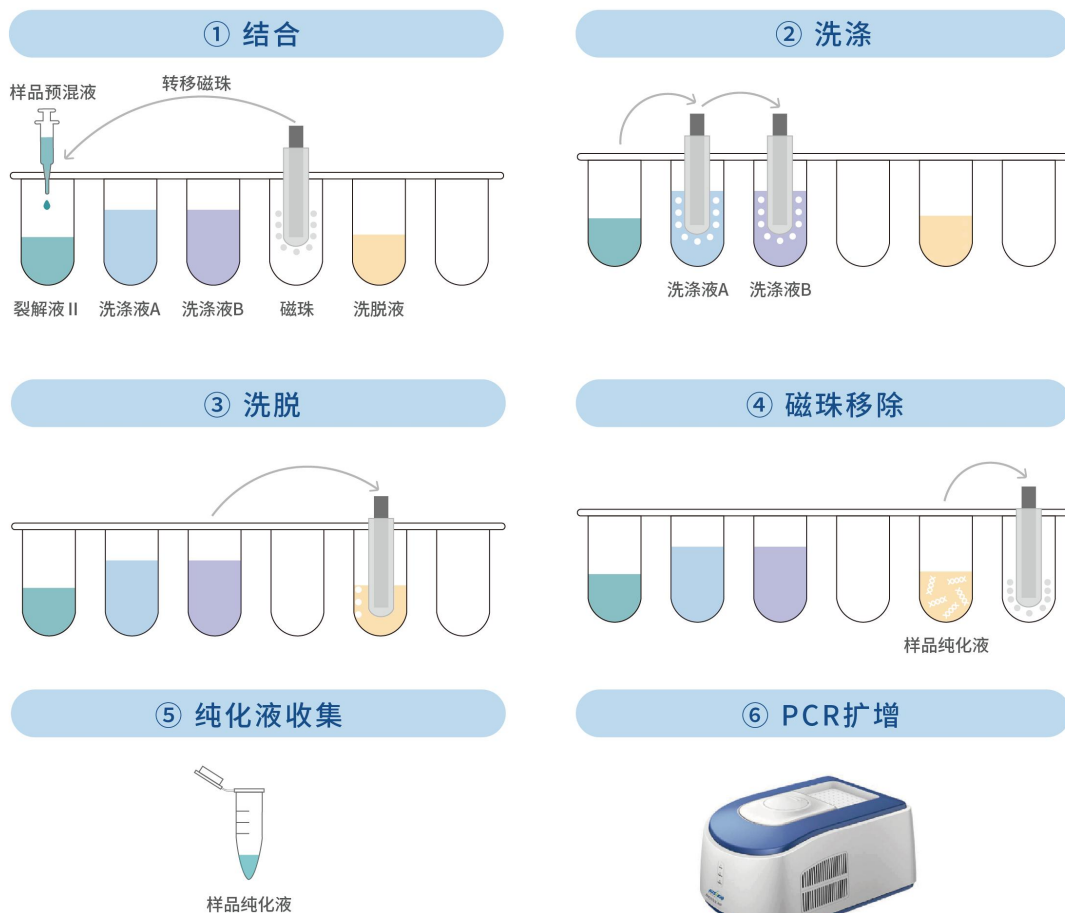
(3) 加标回收（ERC）：取一管上述待测样品预混液，根据待测样品的检测值加入一定量的标准品，制备成 ERC 样品。

备注：ERC 可用来评估 DNA 提取的效率、回收率和准确度，也可用来验证分析方法和系统性能。加标量为待测样品检测值的 2-10 倍为宜。

(4) 阴性对照（NCS）：每次实验中都需要设置一个 NCS 作为阴性样品，NCS 与其他待测样品一起进行处理，以检验在样品处理过程中是否存在交叉污染或环境污染。

■ 核酸提取

● 机器提取（rHCDpurify® 前处理系统）



1. 提取准备

按照表 2 加入相应溶液：

表 2. 96 深孔板排布

第一组						第二组					
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
S1						S1 ERC					
S2						S2 ERC					
S3						S3 ERC					
S4						S4 ERC					
S5						S5 ERC					
S6						S6 ERC					
NCS											

其中：

第 1 或 7 列：全部样品预混液（200 μL 裂解液I + 20 μL 蛋白酶 K + 100 μL 待测样品或其他体积的 ERC）+ 600 μL 裂解液II

备注：使用低吸附枪头将样品预混液全部转移至 96 深孔板对应的孔中。

第 2 或 8 列：洗涤液 A 700 μL/孔

第 3 或 9 列：洗涤液 B 700 μL/孔

第 4 或 10 列：磁珠 30 μL/孔

备注：磁珠使用前应在漩涡振荡器充分振荡 5 秒。如果样品较多，每次加入磁珠过程中应再次充分震荡混匀磁珠，以保证每次加入的磁珠量的一致性。

第 5 或 11 列：洗脱液 100 μL/孔

备注：洗脱液的体积可以根据实际需要进行调整，注意最小洗脱体积为 50 μL。

2. 程序启动

- (1) 电源键打开—点击“登录”输入账号及密码—进入主页面
- (2) 75%酒精棉球擦拭仪器内部—点击“紫外灯”—选择“15 分钟”

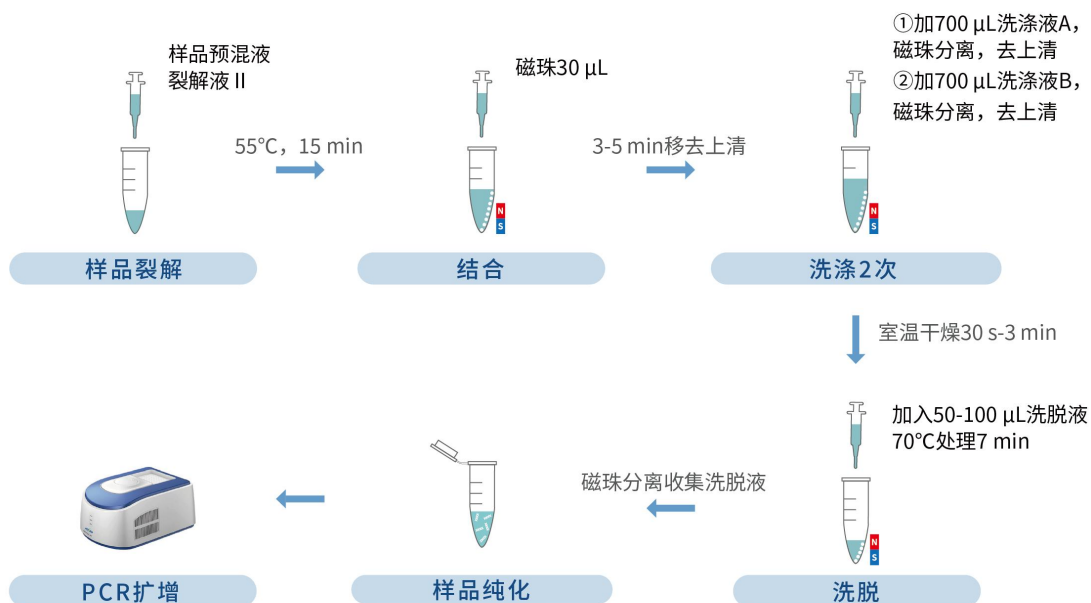
备注：此步骤可在提取准备操作之前进行

- (3) 将加好样的 96 深孔板放入仪器中固定位置, 并把塑料套管插入磁头对应位置。
- (4) 点击“运行”—选择对应程序—扫描试剂盒上二维码—仪器运行。
- (5) 程序结束, 发出“滴滴”声, 立即取出深孔板, 将样品纯化液全部转移到新的对应 1.5 mL 低吸附离心管内。

3. 注意要点

- (1) 程序启动前, 一定要加套管。
- (2) 仪器工作前及完成后需要紫外灭菌至少 15 分钟, 两次提取间隔 30 分钟以上。
- (3) 程序运行完毕后, 需立即将样品纯化液转移至干净的 1.5 mL 低吸附离心管内。
为保证检测结果的准确性请尽量在完成样本提取的当天进行后续的 DNA 检测。
- (4) 实验开始前确保实验室环境温度不低于 22 °C。

●手工提取



1. 结合

- (1) 在上述样品预混液 (200 μL 裂解液 I + 20 μL 蛋白酶 K + 100 μL 待测样品或其他体积的 ERC) 中加入 600 μL 裂解液 II, 充分振荡混匀, 快速离心, 置于 55 °C 金属浴或水浴中孵育 15 分钟。
- (2) 取出离心管快速离心 10 秒后, 加入 30 μL 磁珠。

备注: 磁珠使用前应在漩涡振荡器充分振荡 5 秒。如果样品较多, 每次加入磁珠过程中应再次充分震荡混匀磁珠, 以保证每次加入的磁珠量的一致性。

(3) 将装有全部混合物的离心管置于漩涡震荡器上振荡 5 分钟, 快速离心 10 秒后静置于磁性分离架上。

(4) 待溶液澄清, 磁珠完全分离后, 用枪头小心移去上清。

备注: 等待磁珠完全分离的时间约为 3-5 分钟。去除上清时枪头避免搅动磁珠, 避免磁珠同上清一起被去除。

2. 洗涤

(1) 从磁性分离架上取下含有磁珠的离心管, 加入 700 μL 洗涤液 A, 振荡 1 分钟使磁珠和洗涤液 A 混匀; 快速离心 10 秒后, 将离心管重置于磁性分离架上。待溶液澄清, 磁珠完全分离后, 用枪头移去上清液, 完成第 1 次磁珠洗涤。

(2) 从磁性分离架上取下含有磁珠的离心管, 加入 700 μL 洗涤液 B, 振荡 1 分钟使磁珠和洗涤液 B 混匀; 快速离心 10 秒后, 将离心管重置于磁性分离架上。待溶液澄清, 磁珠完全分离后, 用枪头移去上清液, 完成第 2 次磁珠洗涤。

(3) 为保证液体充分移除, 可将离心管再次快速离心 10 秒, 置于磁性分离架上, 待磁珠完全分离后, 用 10 μL 枪头小心的将残余液体吸除干净。

备注: 去除上清时枪头避免搅动磁珠, 避免磁珠同上清一起被去除。

(4) 从磁性分离架上取下离心管, 打开管盖在室温下干燥 30 秒-3 分钟, 除去残留的乙醇。

备注: 干燥时间依具体情况而定, 室温较高或空气干燥的环境下可以选择缩短干燥时间; 而室温较低或空气湿润环境下, 干燥时间可以稍长。注意防止干燥过度, 避免影响磁珠性能。

3. 洗脱

(1) 沿离心管壁加入 50-100 μL 70 $^{\circ}\text{C}$ 预热的洗脱液, 用漩涡振荡器轻微振荡 5 秒使磁珠和洗脱液混匀, 70 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 7 分钟, 孵育过程中可再次振荡混匀 2-3 次。

备注: 振荡后需将残留于管壁上的磁珠和洗脱液轻甩至管底。振荡至管盖上的磁珠和洗脱液需快速离心后重新振荡混匀。

(2) 孵育完成后, 将离心管高速离心 1 分钟, 然后静置于磁性分离架上, 待磁珠分离后, 用枪头小心转移溶液到干净的离心管中。

(3) 将上一步获得的离心管快速离心 10 秒, 然后静置于磁性分离架上, 待磁珠分离后, 用枪头再次转移溶液到干净离心管, 所得即为样品纯化液。

备注: 请尽量在完成样品纯化处理当天进行后续的DNA检测, 以保证检测结果的准确性。

生效时间: 2025 年 07 月 17 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