

通用型DNA提取(磁珠法)试剂盒说明书

【产品介绍】

试剂盒可从细胞系(如CHO, E.coli, Human, Vero)生产的生物药原液、成品、半成品、中间品或工艺过程监控样本中提取宿主细胞DNA。提取过程使用化学裂解和磁珠提取不同类型样本的残留DNA,对高蛋白浓度样本也可提取微量DNA。

【产品组成】

试剂盒组分及储存条件			
类别	组分名称	规格	货号
Box 1	蛋白酶K (20mg/ml)	1mL/支×2支	D101-1
	糖原	450μL/支×1支	D101-2
	Poly A 钾盐	300μL/支×1支	D101-3
Box 2	磁珠悬浮液	1mL/支×2支	D101-4
	裂解液	10mL/瓶×1瓶	D101-5
	结合液	40mL/瓶×1瓶	D101-6
	洗涤液 A	24mL/瓶×1瓶	D101-7
	洗涤液 B	12mL/瓶×1瓶	D101-8
	洗脱液	10mL/瓶×1瓶	D101-9

【运输和保存方法】

1. Box 1干冰运输,长期保存于-20℃。
2. Box 2室温运输,室温保存,有效期1年。
3. 收到货后,请检查各组分是否齐全,并立即放入对应的保存温度中储存。

【注意事项】

1. 使用前请仔细阅读使用说明书,严格按照使用说明书操作,样本处理建议在超净台或生物安全柜中进行。
2. 注意观察常温保存溶液是否有析出或浑浊(尤其冬季室温为低温环境时),可37℃水浴至溶液澄清,避免影响使用效果。
3. 洗脱时可能存在磁珠残留,吸取样本时应尽量避免吸入磁珠。
4. 处理样本及加样时,勤换枪头,避免交叉污染。
5. 为了您的安全和健康,请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
6. 本产品仅作科研用途。

【实验前准备】

1. 自备设备:漩涡振荡器、水浴锅或金属浴、离心机、磁性分离架。
2. 自备耗材:10 μL-1000 μL不等的低吸附带滤芯枪头、1.5mL低吸附离心管、PCR 8连管或96孔板及相应的管盖或覆膜。
3. 自备试剂:无水乙醇(分析纯)、1×PBS 缓冲液(pH7.4,无Mg和Ca离子)、超纯水。
4. 首次使用时,需在洗涤液A和洗涤液B瓶中加入标签或说明书中注明体积的无水乙醇,充分混匀后使用,并做好标记。每次使用后将瓶盖盖紧,以保持瓶中的乙醇含量。

【操作方法】

▪ 样本处理

1. 待测样本为疫苗等本身含有较高的DNA含量的样本,可用1×PBS(pH7.4,无Mg和Ca离子)对样本进行适当比例稀释后提取(对样本进行稀释是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,通常可考虑进行100倍稀释)。
2. 待测样本为干粉的,可用超纯水将样本稀释成10 mg/mL 或100 mg/mL后使用。
3. 待测样本为复杂背景基质的,可根据需要进行加标回收实验,以确定合适的样本稀释倍数。
4. 取100 μL样本装于1.5 mL离心管中,加入100 μL裂解液和10 μL蛋白酶K,涡旋混匀10 sec。【注】:样本蛋白浓度0-100 mg/mL,蛋白酶K用量为10 μL;样本蛋白浓度100-200 mg/mL,蛋白酶K用量为20 μL。
5. 60°C孵育20 min。
6. 孵育完成后,加入400 μL结合液、9 μL糖原和6 μL Poly A 钾盐涡旋混匀。
7. 加入20 μL磁珠,涡旋混匀后,放置10 min,每隔3 min涡旋混匀10 sec。【注】:磁珠使用前需涡旋混匀,保证磁珠彻底重悬。在一次性加样4-5次后,建议再次混匀后再行加样。
8. 短暂离心后,将离心管置于磁力架上静置1-2 min,待磁珠完全吸附,小心吸出液体。
9. 加入500 μL洗涤液A(使用前请先检查是否已加入无水乙醇),振荡或涡旋混匀,确保磁珠分散,离心管壁无聚集磁珠。
10. 短暂离心后,将离心管置于磁力架上静置1-2 min,待磁珠完全吸附,小心吸取液体。
11. 加入500 μL洗涤液B(使用前请先检查是否已加入无水乙醇),振荡或涡旋混匀,确保磁珠分散,离心管壁无聚集磁珠。
12. 短暂离心后,将离心管置于磁力架上静置1-2 min,待磁珠完全吸附,小心吸取液体。
13. 为保证尽量吸出残留液体,可将离心管快速离心10 sec后,置于磁力架上用10 μL移液器吸出残留液体。
14. 打开管盖,室温放置3 min 直至乙醇完全挥发。观察到磁珠表面无反光或出现裂隙即表明乙醇已挥发完全。
15. 将离心管从磁力架上取下,加入50-100 μL 65°C预热的洗脱液,振荡混匀,短暂离心后,65°C孵育5 min,期间可振荡混匀1次。
16. 短暂离心后,将离心管放置于磁力架上静置2 min,待磁珠完全吸附,小心将DNA溶液转移至新的离心管中,保存于-20°C,长期保存需放置于-80°C。