

## 通用型宿主残留 DNA 样本前处理试剂盒说明书

### ❖ 试剂盒简介

宿主残留 DNA 样本前处理试剂盒适用于生物制品样本中残留 DNA 检测的前处理。本试剂盒缓冲体系经过优化，可高效分离纯化样本中的微量宿主残留 DNA。该试剂盒可搭配本公司研发的多种宿主细胞 DNA 残留检测试剂盒。

### ❖ 产品组分、规格及储存条件

试剂盒包括 100 个反应，未开封包装的保质期及储存条件标注在包装标签上。

表 1 试剂盒组分

序号	产品组分	装量	储存条件
I	裂解液	30 mL	室温
	漂洗液 I	66 mL	室温
	漂洗液 II	22 mL	室温
	洗脱液	6 mL	室温
II	磁珠混悬液	1 mL	2~8℃
III	蛋白酶 K	1 mL	-18℃及以下

### ❖ 实验所需但试剂盒中未含材料

- 无水乙醇
- 100 %异丙醇
- 1000 μL、100 μL、10 μL 无菌低吸附滤芯枪头
- 0.2 mL、0.5 mL、1.5 mL 和 50 mL 无菌低吸附离心管

### ❖ 需准备的设备

- 迷你离心机
- 计时器
- 磁性分离架
- 高速冷冻离心机

- 漩涡振荡器
- 恒温水浴锅
- 1000  $\mu$ L、100  $\mu$ L、10  $\mu$ L 移液枪
- 生物安全柜

## ❖ 操作步骤

### • 样品准备

#### 1、不同类型样本预处理：

- a、若待测样本为疫苗或者生物制品上游中间样品等本身具有较高核酸含量的样本，可用 1 $\times$ PBS 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内，稀释倍数通常不超过 100 倍）。
- b、若待测样本为干粉时，可用超纯水将样本稀释至 10 mg/mL 或者 100 mg/mL 后使用。

#### 2、对照样品处理：

##### a、加标回收（ERC）

将适量的 DNA 参考品或者国家标准品 DNA 加入样品中，即为加标回收样品（ERC）。具体样品的 DNA 加标量设定在其无加标测试值的 2-10 倍为宜。

##### b、阴性对照（NCS）

阴性对照（NCS）为等量的样本基质，与其他待测样品及加标回收样品一起进行处理 DNA 提取。

### • 提取步骤

- 1、加入 300  $\mu$ L 裂解液和 10  $\mu$ L 蛋白酶 K，震荡混匀，75  $^{\circ}$ C 放置 15 min。
- 2、加入 300  $\mu$ L 异丙醇和 9  $\mu$ L 糖原，震荡混匀。
- 3、加入 10  $\mu$ L 磁珠悬浮液，震荡混匀，静置 5 min。（注：磁珠在使用之前需从低温冰箱取出放置 30 min 进行平衡）。
- 3、将离心管放置于磁力架上静置 30 sec，待磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
- 4、加入 600  $\mu$ L 漂洗液 I，震荡混匀，将离心管置于磁力架静置 30 sec，待磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
- 5、加入 500  $\mu$ L 漂洗液 I，震荡混匀，将离心管置于磁力架静置 30 sec，待磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
- 6、加入 600  $\mu$ L 漂洗液 II，震荡混匀，将离心管置于磁力架静置 30 sec，待磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
- 7、加入 500  $\mu$ L 漂洗液 II，震荡混匀，将离心管置于磁力架静置 30 sec，待磁珠完全吸附后，小心吸去液体，将离心管置于磁力架上，室温晾干 10 min 左右。
- 8、将离心管从磁力架上取下，加入 50  $\mu$ L 的洗脱缓冲液 TE，震荡混匀，56  $^{\circ}$ C 孵育 10 min，

期间颠倒来回颠倒 3 次混匀。

9、将离心管置于磁力架上,待磁珠完全吸附之后,将 DNA 溶液转移至新的离心管中, -20 °C 条件下保存。