

宿主细胞DNA残留检测试剂盒 使用细节注意

- 1、标曲配制。试剂盒中的参考品DNA每次使用前轻弹混匀，离心甩至管底（2~3秒）。标曲配制过程中，ST0~ST5/ST6 管混匀离心时间不用太长，震荡 2~3 秒，离心甩下去即可（2~3秒），整个过程重复 1~2 遍。注意：建议在配制ST0时，选取5 μ L DNA+45 μ L 稀释液或者10 μ L+90 μ L 稀释液的体系，不建议取更少的DNA做稀释；另外，换新枪头吸取液体时要润洗3次，再进行吸取液体（过程中的枪头均使用低吸附滤芯枪头）。
- 2、检测试剂盒中的 qPCR MIX 颠倒混匀，无需剧烈震荡。
- 3、纯化过程中，尽量不要损失磁珠，对于底部比较分散的磁珠，可以用枪头对准底部磁珠部位轻吹两下，使之往上集中。
- 4、洗涤液B去除干净后，干燥时不要放置时间太长导致磁珠干结影响洗脱，一般1分钟左右即可。如果操作样本较多，请分批操作（每批 6 个样本左右），在洗涤液 B 磁珠吸附那一步，先处理第一批样本直至最后洗脱液添加完毕，磁珠全部集中至洗脱液中，再进行下一批样本操作（弃洗涤液 B，离心，弃残留体，干燥 1min 左右，洗脱），最后所有样本一起进行 70 $^{\circ}$ C 孵育。
- 5、洗脱过程中，应震荡2~3次以使磁珠重悬，每次震荡完毕都需将管壁上的液滴轻甩至管底，以免磁珠干于壁上影响洗脱。
- 6、加标时尽量用稀释好的标准品，以免取量不准导致差异。
- 7、加标是往100 μ L样品中加入已知量的DNA，经抽提纯化、检测，与未加标的100 μ L样品对比，计算回收率（注意洗脱体积），加标量一般设定在样品检测值的 2~10 倍。
- 8、通常使用的磁力架有2种，一种是磁性集中在磁力架中央一块圆形区域，另一种是磁性为磁力架整面，这两种磁力架对磁珠吸附形态表现为，第一种磁珠集中在管壁中央，第二

种磁珠分布在靠近磁力架管壁的整片区域。实验操作步骤中加入结合液等震荡完成后、加入洗涤液A/B震荡完成后离心时间会有所区别，针对第一种磁力架，离心时间可控制在10s或更长时间，针对第二种磁力架，离心时间应适当缩短至3~5s，以免磁珠集中在EP管下端，造成磁珠损失。

9、防止 PCR 污染

- ◇ 实验时穿实验服并戴口罩，勤换手套；
- ◇ 使用带滤芯移液枪头和灭菌EP管；
- ◇ 分区操作：整个实验操作需分区操作，分为标曲配制区、样品前处理区、反应液配制区、模板加样区和PCR反应区；PCR反应区需设置在单独实验室内，其余各区可在一个实验室内不同实验台进行，有条件的可以将标曲配制放在超净台进行（如果超净台通风系统是室内循环，则关闭风机），尽量远离生产车间或基因组DNA提取等与宿主细胞相关的实验。每个区最好能单独配备移液枪，勿交叉使用；
- ◇ 实验前整理操作环境，有条件的进行酒精消毒；
- ◇ 空调开启时，可在实验开始前先开启空调预冷实验室，待进行实验时，将空调风速调至最低并尽量远离出风口操作；
- ◇ 实验过程中先准备阴性对照管、样品管并盖紧管盖，最后准备阳性对照管；废液缸内可放入 1/2 体积的水，防止枪头上的残液溅出；
- ◇ 勿将扩增产物带至PCR反应液配制区；
- ◇ 实验结束后清理桌面，及时清除实验垃圾。

技术支持联系：

0572-2115083 | info@shenkebio.com | 浙江省湖州市吴兴区南太湖科创中心3幢10层1007-1