

MolPure® Magnetic Residual DNA Sample Preparation Kit (2G)**磁珠法残留 DNA 样本前处理试剂盒（瓶装）(2G)****产品信息**

产品名称	产品编号	规格
MolPure® Magnetic Residual DNA Sample Preparation Kit (2G)	18464ES25	25T
磁珠法残留 DNA 样本前处理试剂盒（瓶装）(2G)	18464ES60	100T

产品描述

MolPure® Magnetic Residual DNA Sample Preparation Kit 适用于生物制品样本中残留 DNA 检测的前处理。采用独特的磁珠和精心优化的缓冲体系，可最大限度的分离纯化样本中的微量宿主细胞残留 DNA。

该前处理试剂盒可与本公司的多种宿主细胞 DNA 残留（qPCR 法）检测试剂盒配合使用，包括 CHO 宿主细胞残留 DNA 检测试剂盒(Cat#41301ES)、HEK293 宿主细胞残留 DNA 检测试剂盒(Cat#41302ES/41306ES)、Vero 宿主细胞残留 DNA 检测试剂盒(Cat#41303ES)和 E.coli 残留 DNA 检测试剂盒(Cat#41304ES/41308ES)、SV40LTA&E1A 残留 DNA 检测试剂盒(Cat#41310ES)和复制型慢病毒(RCL)检测试剂盒(Cat#41311ES)等。

产品组分

类别	组分编号	组分名称	产品编号/规格	
			18464ES25 (25T)	18464ES60 (100T)
Part I	18464-A	蛋白酶 K (20 mg/mL)	0.5 mL/支×1 支	1 mL/支×2 支
	18464-B	磁珠悬浮液	0.5 mL/支×1 支	1 mL/支×2 支
	18464-C	裂解液	2.5 mL/瓶×1 瓶	10 mL/瓶×1 瓶
Part II	18464-D	结合液	10 mL/瓶×1 瓶	40 mL/瓶×1 瓶
	18464-E	洗涤液 A*	8 mL/瓶×1 瓶（需加 12 mL 乙醇）	32 mL/瓶×1 瓶（需加 48 mL 乙醇）
	18464-F	洗涤液 B*	4 mL/瓶×1 瓶（需加 16 mL 乙醇）	16 mL/瓶×1 瓶（需加 64 mL 乙醇）
	18464-G	洗脱液	2.5 mL/瓶×1 瓶	10 mL/瓶×1 瓶
Part III	18464-H	糖原	225 uL/支×1 支	900 uL/支×1 支
	18464-I	Poly A 钾盐	150 uL/支×1 支	600 uL/支×1 支

运输和保存方法

1. Part I 组分冰袋运输，4℃可保存 1 年，长期保存于-20℃。
2. Part II 组分室温运输，室温保存，有效期 1 年。
3. Part III 组分干冰运输，-20℃保存 1 年。
4. 收到货后，请检查 Part I、Part II 和 Part III 共 3 个组分是否齐全，并立即放入对应的保存温度中储存。

注意事项

1. 使用前请详细阅读使用说明书，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、杭州奥盛 Auto-Pure32A 自动化核酸提取仪或其他品牌全自动化核酸提取仪。
2. 自备耗材：10 μ L-1000 μ L 不等的低吸附带滤芯枪头、1.5 mL 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 $\times$ PBS 缓冲液（pH 7.4，无 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} ）、超纯水。

【注】：推荐您购买本公司的超纯水(Cat#10116ES)。

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。

一、手工提取操作方法

1. 样本处理

- 1.1 待测样本为疫苗等本身含有较高的核酸含量的样本，可用 1 $\times$ PBS（pH 7.4，无 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} ）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）。
- 1.2 待测样本为干粉时，可用超纯水将样本稀释至 10~100 mg/mL 后使用。
- 1.3 待测样本为复杂背景基质时，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。

2. 取 100 μ L 样本装于 1.5 mL 离心管中，加入 100 μ L 裂解液和 10 μ L 蛋白酶 K，涡旋混匀 10 sec 后短暂离心。

【注】：样本蛋白浓度 0~100 mg/mL，蛋白酶 K 用量为 10 μ L；样本蛋白浓度 100~200 mg/mL，蛋白酶 K 用量为 20 μ L。

3. 将离心管置于 60 $^{\circ}$ C 孵育 30 min，75 $^{\circ}$ C 孵育 15 min。

【注】：若金属浴升温较快，可在同一个金属浴上孵育；若升温慢，则需提前准备 2 个金属浴，并将温度分别调至 60 $^{\circ}$ C 和 75 $^{\circ}$ C。

4. 孵育完成后，加入 400 μ L 结合液、9 μ L 糖原和 6 μ L Poly A 钾盐涡旋混匀。

5. 加入 20 μ L 磁珠悬浮液，涡旋混匀后，放置 10 min，每隔 2 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。

6. 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，小心吸弃液体。

7. 加入 700 μ L 洗涤液 A（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），涡旋混匀 1 min，确保磁珠分散，离心管壁无聚集磁珠。

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，小心吸弃液体。

9. 加入 700 μ L 洗涤液 B（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），涡旋混匀 1 min，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，小心吸取弃体。

11. 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 μ L 移液器吸出残留液体。

12. 打开管盖，室温或 37 $^{\circ}$ C 放置 5~10 min，直至乙醇完全挥发，磁珠表面无反光至刚出现龟裂即可，不可过度干燥。

13. 将离心管从磁力架上取下，加入 100 μ L 65 $^{\circ}$ C 预热的洗脱液，振荡混匀后短暂离心，65 $^{\circ}$ C 孵育 5 min，期间振荡混匀 1 次。

14. 短暂离心后，将离心管放置于磁力架上静置约 2 min，待磁珠完全吸附后，小心将 DNA 溶液转移至新的离心管中，保存于 -20 $^{\circ}$ C，长期保存需放置于 -80 $^{\circ}$ C。

二、半自动化提取操作方法

配套本公司自动化仪器使用，以 32 通道核酸提取仪为例。不同品牌和型号的仪器，试剂加入方式可能会有差别，详情请咨询本公司技术人员。

1. 样本处理

1.1 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 (pH 7.4, 无 Mg^{2+} 和 Ca^{2+}) 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）。

1.2 待测样本为干粉时，可用超纯水将样本稀释至 10~100 mg/mL 后使用。

1.3 待测样本为复杂背景基质时，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。

2. 取 100 μ L 样本装于 1.5 mL 离心管中，加入 100 μ L 裂解液和 10 μ L 蛋白酶 K，涡旋混匀 10 sec 后短暂离心。

【注】：样本蛋白浓度 0~100 mg/mL，蛋白酶 K 用量为 10 μ L；样本蛋白浓度 100~200 mg/mL，蛋白酶 K 用量为 20 μ L。

3. 将离心管置于 60°C 孵育 30 min，75°C 孵育 15 min，得到预处理样本，待用。

4. 按照下表向 96 孔深孔板中加入相应试剂：

位置	试剂名称	用量/孔
第 1/7 列	预处理样本	200 μ L
	结合液	400 μ L
	糖原	9 μ L
	Poly A 钾盐	6 μ L
第 2/8 列	洗涤液 A*	700 μ L
第 3/9 列	磁珠悬浮液	20 μ L
	洗涤液 B*	700 μ L
第 6/12 列	洗脱液	100 μ L

【注】：

- 磁珠悬浮液使用前需在涡旋混匀仪上充分重悬或充分颠倒混匀，在一次性加样 4~5 次后，建议再次混匀后再行加样。
- 不同品牌和型号的仪器，试剂加入方式可能会有差别，详情请咨询本公司技术人员。
- 将上述 96 孔板正确安放置核酸提取仪器中，并放置八联磁棒套。
- 运行如下程序，程序结束后，将洗脱板转移至新的离心管中，溶液可置于 -20°C 短期保存，-80°C 长期保存。

32 通道核酸提取仪器的提取程序

步骤	孔位	混合时间 (min)	吸磁时间 (sec)	等待时间 (min)	容积 (μ L)	混合速度 (1~10)	温度 (°C)	混合位置 (0~100%)	混合幅度 (1~100%)	吸磁位置 (0~100%)	吸磁速度 (1~10)
移磁珠	3	0.2	40	0	700	5	/	0	80	0	1
结合	1	12	80	0	600	5	/	0	80	0	1
清洗 1	2	2	30	0	700	8	/	0	80	0	1
清洗 2	3	1.5	30	4	700	8	/	0	80	0	1
洗脱	6	8	80	0	100	8	65	0	80	0	1
弃磁珠	3	0.2	0	0	700	5	/	0	80	0	1

【注】：

- 设置程序时，在“选项”一栏中选择“分 9 段磁吸”和“升温动作同步”。
- 上述提取程序为推荐程序，用户可根据仪器品牌型号及自身需求进行相应调整，详情可咨询本公司技术人员。