

MolPure® Magnetic Residual DNA Sample Preparation Kit

磁珠法残留 DNA 样本前处理试剂盒（瓶装）

产品信息

产品名称	产品编号	规格
MolPure® Magnetic Residual DNA Sample Preparation Kit	18461ES25	25 T
磁珠法残留 DNA 样本前处理试剂盒（瓶装）	18461ES60	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）、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）。

产品组分

类别	组分编号	组分名称	产品编号/规格	
			18461ES25 (25 T)	18461ES60 (100 T)
Part I	18461-A	蛋白酶 K (20 mg/mL)	0.5 mL/支×1 支	1 mL/支×2 支
	18461-B	磁珠悬浮液	0.5 mL/支×1 支	1 mL/支×2 支
	18461-C	裂解液	2.5 mL/瓶×1 瓶	10 mL/瓶×1 瓶
	18461-D	结合液	10 mL/瓶×1 瓶	40 mL/瓶×1 瓶
Part II	18461-E	洗涤液 A*	6 mL/瓶×1 瓶 (需加 9 mL 乙醇)	24 mL/瓶×1 瓶 (需加 36 mL 乙醇)
	18461-F	洗涤液 B*	3 mL/瓶×1 瓶 (需加 12 mL 乙醇)	12 mL/瓶×1 瓶 (需加 48 mL 乙醇)
	18461-G	洗脱液	2.5 mL/瓶×1 瓶	10 mL/瓶×1 瓶
Part III	18461-H	糖原	225 μL/支×1 支	900 μL/支×1 支
	18461-I	Poly A 钾盐	150 μL/支×1 支	600 μL/支×1 支

运输和保存方法

1. Part I 组分冰袋运输，4°C可保存 1 年，长期保存于-20°C。
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°C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°C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 和 Ca 离子）、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 DNA 含量的样本，可用 1 \times PBS（pH7.4，无 Ca 和 Mg）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）。
 - 1.2 待测样本为干粉的，可用超纯水将样本稀释成 10 mg/mL 或者 100 mg/mL 后使用。
 - 1.3 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。
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。
【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. 60 $^{\circ}$ C 孵育 20 min。
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，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。
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，小心吸出液体。
7. 加入 500 μ L 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。
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，小心吸取液体。
9. 加入 500 μ L 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。
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. 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。
13. 将离心管从磁力架上取下，加入 50-100 μ L 65 $^{\circ}$ C 预热的洗脱液，振荡混匀，短暂离心后，65 $^{\circ}$ C 孵育 5 min，期间可振荡混匀 1 次。
14. 短暂离心后，将离心管放置于磁力架上静置 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 $^{\circ}$ C，长期保存需放置于 -80 $^{\circ}$ C。

二、半自动化提取操作方法

配套自动化仪器使用，以杭州奥盛 Auto-Pure32A 自动化核酸提取仪为例（如要配套其他主流品牌自动化仪器使用，程序可向翌圣生物科技（上海）股份有限公司获取）：

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（pH7.4，无 Ca 和 Mg）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）。

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

1.3 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。

2. 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。

3. 60°C 孵育 20 min，即为**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（以杭州奥盛 Auto-Pure32A 核酸提取仪为例）：

板的名称	位置	试剂名称	用量/孔
样品处理板	V1	预处理样本	200 μL
		结合液	400 μL
		糖原	9 μL
		Poly A 钾盐	6 μL
漂洗板	V2	洗涤液 A*	500 μL
洗涤板/磁珠板	V3	磁珠悬浮液	20 μL
		洗涤液 B*	500 μL
洗脱板	V6	洗脱液	50-100 μL

【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。

5. 按照提取仪的位置，正确安放上述 96 孔预装板，并放置 96 深孔磁棒套。

6. 运行如下程序，程序结束后，将洗脱液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。

奥盛 Auto-Pure32A 的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 (μL)	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	60	0	500	5	/	0	80	0	1
结合	1	15	90	0	600	5	/	0	80	0	1
清洗 1	2	1	60	0	500	8	/	0	80	0	1
清洗 2	3	1	60	4	500	8	/	0	80	0	1
洗脱	6	8	90	0	100	10	65	0	80	0	1
弃磁珠	3	0.2	0	0	500	5	/	0	80	0	1