

宿主细胞 DNA 残留检测试剂盒使用注意事项

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。
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), 即在洗涤液 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, 弃残留液体, 干燥 1min 左右, 洗脱), 最后所有样本一起 70℃ 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
 - 1) 实验时穿实验服并戴口罩, 勤换手套;
 - 2) 使用带滤芯移液枪头和灭菌 Ep 管;

- 3) 分区操作：整个实验操作需分区操作，分为标曲配置区、样品前处理区、反应液配置区、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；
- 4) 实验前整理操作环境，有条件的进行酒精消毒；
- 5) 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；
- 6) 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；
- 7) 勿将扩增产物带至 PCR 反应液配制区；
- 8) 实验结束后清理桌面，及时清除实验垃圾。

湖州申科生物技术有限公司

2017.07

技术支持：

电话: 0572-2165911

www.shenkebio.com

Email: Info@shenkebio.com