

dPCR 和 qPCR 方法分析检测 Human DNA 片段大小分布

介绍

因为残留宿主细胞 DNA (rHCD) 的潜在危害, 对 rHCD 的定量检测分析是生物制品质量控制中的一项重要内容; 并基于现有的证据, rHCD 的片段能够小于 200bp。

为此, 需要建立一个高灵敏度的方法来检测分析生物制品中的 rHCD 片段大小分布情况。

SHENTEK® Human DNA size 检测分析试剂盒基于 PCR 荧光探针法, 设计了三种不同的扩增片段 (122bp、244bp、562bp) 来定量检测分析样本中 Human 残留 DNA 片段的大小分布情况; 可与 SHENTEK® 宿主细胞残留 DNA 样本前处理试剂盒配套使用; 检测快速, 专一性强, 性能可靠, 最低检测限可以达到 pg 水平。

SHENTEK® Human DNA size 检测分析试剂盒可在常见的荧光定量 PCR 仪或数字 PCR 仪上进行检测。

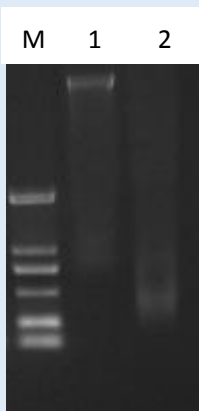
Human gDNA 超声处理

- 1, 取 Human gDNA 参考品, 超声处理 30 分钟后, 电泳检查 DNA 片段分布状态。
- 2, 磁珠法的 DNA 提取纯化。

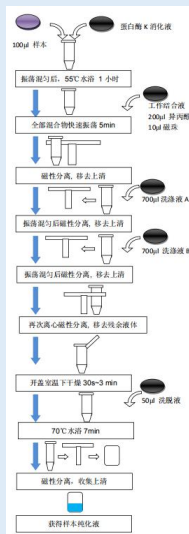
gDNA 电泳

- 1: 未超声 gDNA
- 2: 超声后 gDNA

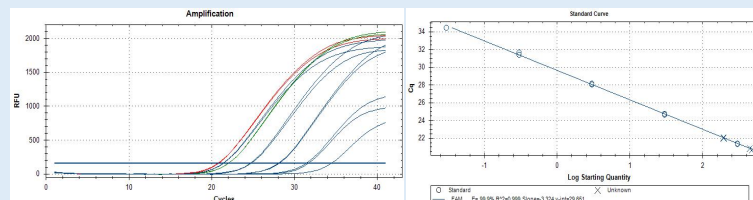
M: DNA marker, 自上而下为 2000bp, 1000bp, 750bp, 500bp, 250bp, 100bp。



Human DNA 前处理提取纯化



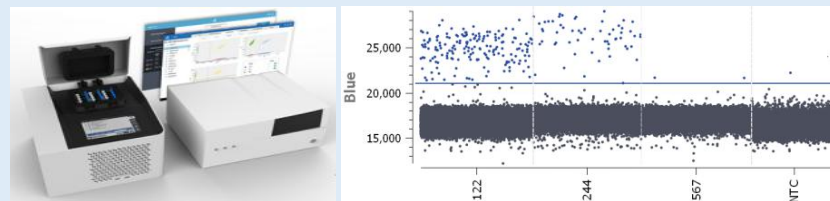
Human DNA size 检测结果--荧光 PCR 仪



	检测值 (pg/µl)		
	122bp	244bp	562bp
超声样本	194.54	60.25	2.03
相对比例	100%	31.0%	1.0%

备注: 所用 qPCR 仪为 CFX96.

Human DNA size 检测结果--dPCR 仪



超声样本	总微滴数	FAM (copies/µl)	阳性微滴数	根据 DNA 浓度计算拷贝数	相对比例
122bp	26676	11.3	176	141.25 copies/µl	100%
244bp	25663	3.93	59	49.125 copies/µl	34.78%
562bp	26207	0.13	2	1.625 copies/µl	1.15%

备注: 所用 dPCR 仪为 Crystal Digital PCR detection system.