



resDetect™ 残留DNA样本制备试剂盒（磁珠法）

货号：OPA-R005

规格：50 Preps

重要提示：在进行实验之前请仔细阅读本手册。

本试剂盒仅用于科研使用，不可用于诊断或治疗应用。

【产品信息】

残留 DNA 样本制备试剂盒可用于手动提取生物制药样本中的残留 DNA (residual DNA, resDNA)。同时, 可以利用自动化核酸提取设备配套本试剂盒对 resDNA 进行快速、高通量提取。

在进行定量 resDNA 实验之前, 请使用该试剂盒对样本进行 DNA 提取。关于 resDNA 定量检测的产品信息, 请参阅相关 resDNA 定量检测试剂盒的用户指南 (ACROBiosystems.com)。

【方法原理】

本试剂盒采用磁珠法对生物制品中残留 DNA 进行分离纯化, 利用独特的缓冲体系、磁珠亲和吸附作用能有效去除蛋白质、盐离子等杂质, 从复杂基质中提取残留 DNA。使用本试剂盒提取纯化的 DNA 纯度高、质量稳定, 可用于下游的 qPCR 等检测。

【注意事项】

1. 使用前须仔细阅读此说明书, 请严格按照说明书操作。
2. 试剂盒必须在有效期内使用。
3. 为有效提取样本中的微量 DNA, 需在操作过程中避免核酸降解或外源污染, 请严格控制环境、工具等引入的其他污染: 操作前后请进行台面清洁, 必要时使用核酸清除剂;
4. 操作人员须佩戴无粉手套、口罩等; 使用一次性无菌无核酸酶低吸附耗材, 建议使用带滤芯枪头。

【组分和存储】

本试剂盒可用于 50 次残留 DNA 样本的制备。

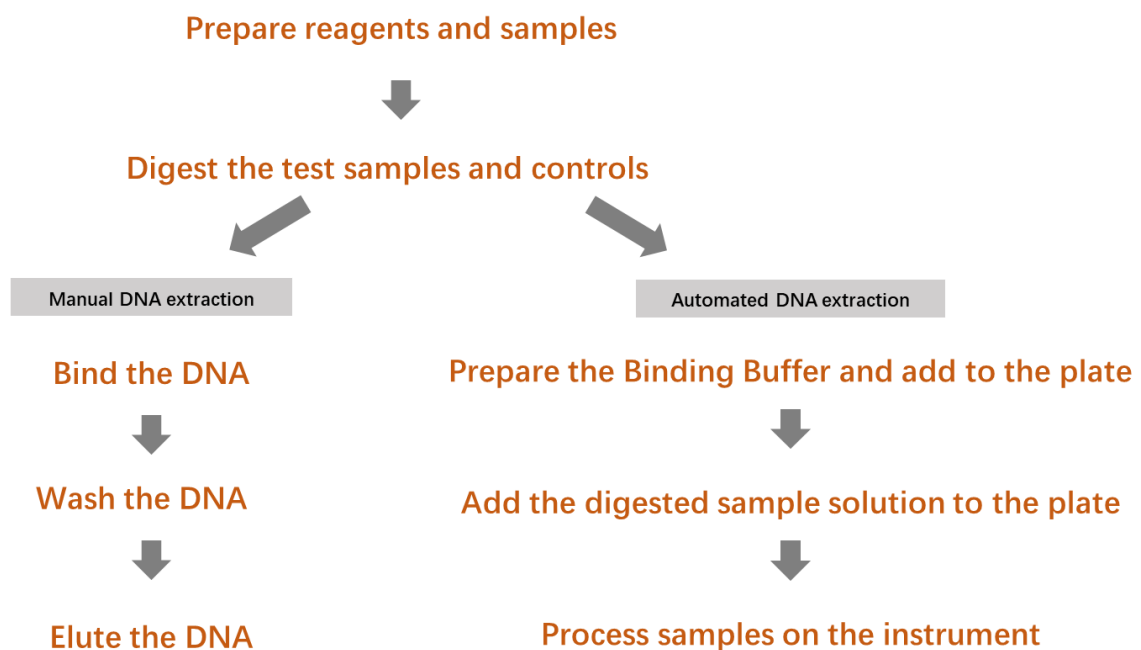
组分	装量	储存条件
保护液 NT (Buffer NT)	1.5 mL	常温 10~30°C 储存; 更优条件为: 蛋白酶 K 和磁珠悬浮液 MB 存放于 2~8°C。
裂解液 LA (Buffer LA)	1.5 mL	
裂解液 LB (Buffer LB)	24 mL	
蛋白酶 K (Proteinase K)	4 mL	
磁珠悬浮液 MB (MagBeads Suspension)	1.5 mL	
助沉剂 CR (CR Powder)	310µg	
洗液 WA (Buffer WA)	38 mL	
洗液 WB (Buffer WB)	18 mL	
洗脱液 EB (Buffer EB)	6 mL	
样本稀释液 (1X PBS)	10 mL	

试剂盒自生产之日起可在常温 (10~30°C) 条件下储存 12 个月。若观察到裂解液、结合液和洗液中有沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液置于室温 (约 25°C) 下平衡一段时间, 或在 37°C 水浴中热 10 分钟以溶解沉淀。

【实验所需自备试剂、耗材、设备】

设备	Magnetic stand
	Block heater
	Mini centrifuge
	Vortex
	Automated extraction instrument
	Pipettors: P1000, P200, P100, P10
试剂	Isopropanol, 99.7%
	Ethanol, 99.7%
	1X PBS (free of Mg ²⁺ and Ca ²⁺) or 1×TE (pH7.0~pH8.0) as sample dilution buffer
	DNase/RNase-free ddH ₂ O
耗材	Disposable gloves
	Nuclease-free, DNA-free aerosol-resistant pipet tips
	Low DNA-Binding Microcentrifuge Tubes (Nuclease-free, DNA-free), Deep-well plate, 8-Strip Tip Comb

【实验流程】



【试剂和样本准备】

试剂准备

1. 新开启 Buffer WA 需按照标签所示体积加入无水乙醇，充分混匀后使用。
2. 新开启 Buffer WB 需按照标签所示体积加入无水乙醇，充分混匀后使用。
3. 请提前将磁珠置于室温平衡 30 分钟，充分涡旋混匀后使用。
4. CR Solution 制备：将含有 310 μg 助沉剂 CR Powder 管瞬时离心，加入 310 μL DNase/RNase-free ddH₂O，涡旋混匀。

注意事项：溶解后的助沉剂 CR Solution 需在 -20 °C 条件下保存，可将其分装成小份进行保存，避免反复冻融。

样本准备

样本稀释（如果需要）

如果检测样本为生物制品工艺上中游样品，其中可能含有较高的 DNA 残留量。为确保检测的准确性，使样本的检测值在标准曲线线性范围之内，使用样本稀释液对样本进行倍比稀释 10~1000 倍，再进行下一步操作。1X PBS (free of Mg²⁺ and Ca²⁺) 或 1×TE (pH7.0~pH8.0) 可作为样本稀释液。

1. 若样本经过稀释，则用**样本稀释液作阴性对照**。
2. 若样本为干粉状态，可以用样本稀释液将干粉样本进行溶解，再进行下一步操作；通常可将干粉样本稀释成 1 mg/mL~100 mg/mL。

【样本预处理】

1. 取 100 μL 样本加入 1.5 mL 或 2.0 mL 低吸附离心管中，分别取 22 μL Buffer NT、70 μL Proteinase K 和 25 μL Buffer LA 加入离心管中，盖紧管盖涡旋振荡混匀；
2. 将离心管置于恒温混匀仪上 56°C，1000 rpm 孵育 30 分钟（建议**加热盖**），孵育完成后，瞬时离心，置于管架上平衡到室温；（若无恒温混匀仪，可使用恒温水浴锅进行孵育，每隔 10 分钟颠倒混匀 2~3 次）；

【手动 DNA 提取过程】（如使用自动化提取设备，请见第 6 页）

DNA 结合

1. 向预处理完成后离心管中加入 400 μL Buffer LB，**颠倒混匀**后涡旋振荡 1 分钟，瞬时离心。
2. 向以上离心管中分别加入 180 μL 异丙醇、25 μL 磁珠悬浮液 MagBeads Suspension（**吸取前需充分涡旋混匀**）、3 μL CR Solution，立即盖紧管盖颠倒混匀数次，涡旋振荡 1 分钟，置于室温静置 10

分钟，期间每隔 5 分钟涡旋振荡 30 s；

3. 瞬时离心后将离心管置于磁力架上静置 5 分钟，待溶液澄清、磁珠完全吸附后用移液器小心移弃上清，**避免碰到磁珠**。

DNA 漂洗

1. 向离心管中加入 700 μL Buffer WA（使用前确认是否已加无水乙醇），涡旋混匀约 10 s，瞬时离心；将离心管置于磁力架上静置 2 分钟，待溶液澄清、磁珠完全吸附后用移液器小心移弃上清，**避免碰到磁珠**；
2. 用 Buffer WA 按照上一步操作重复洗涤 1 次；
3. 加入 700 μL Buffer WB（使用前确认是否已加无水乙醇），涡旋混匀约 10 s，瞬时离心；置于磁力架上静置 2 分钟；待溶液澄清、磁珠完全吸附用移液器小心移弃上清，**避免碰到磁珠**；
4. 再用 10 μL 移液器尽量吸净离心管（置于磁力架上不能取下）中残液，**避免碰到磁珠**；
5. 将离心管继续保持在磁力架上，室温晾干 2~5 分钟至磁珠表面无光泽无干裂，**防止过度干燥**；

注意事项：

1. 乙醇残留会抑制后续 PCR 反应，要确保乙醇完全挥发；同时避免干燥过度，导致核酸难以洗脱；
2. 若需要达到更好的纯度，可重复步骤 3) 一次再进入下一步。

DNA 洗脱

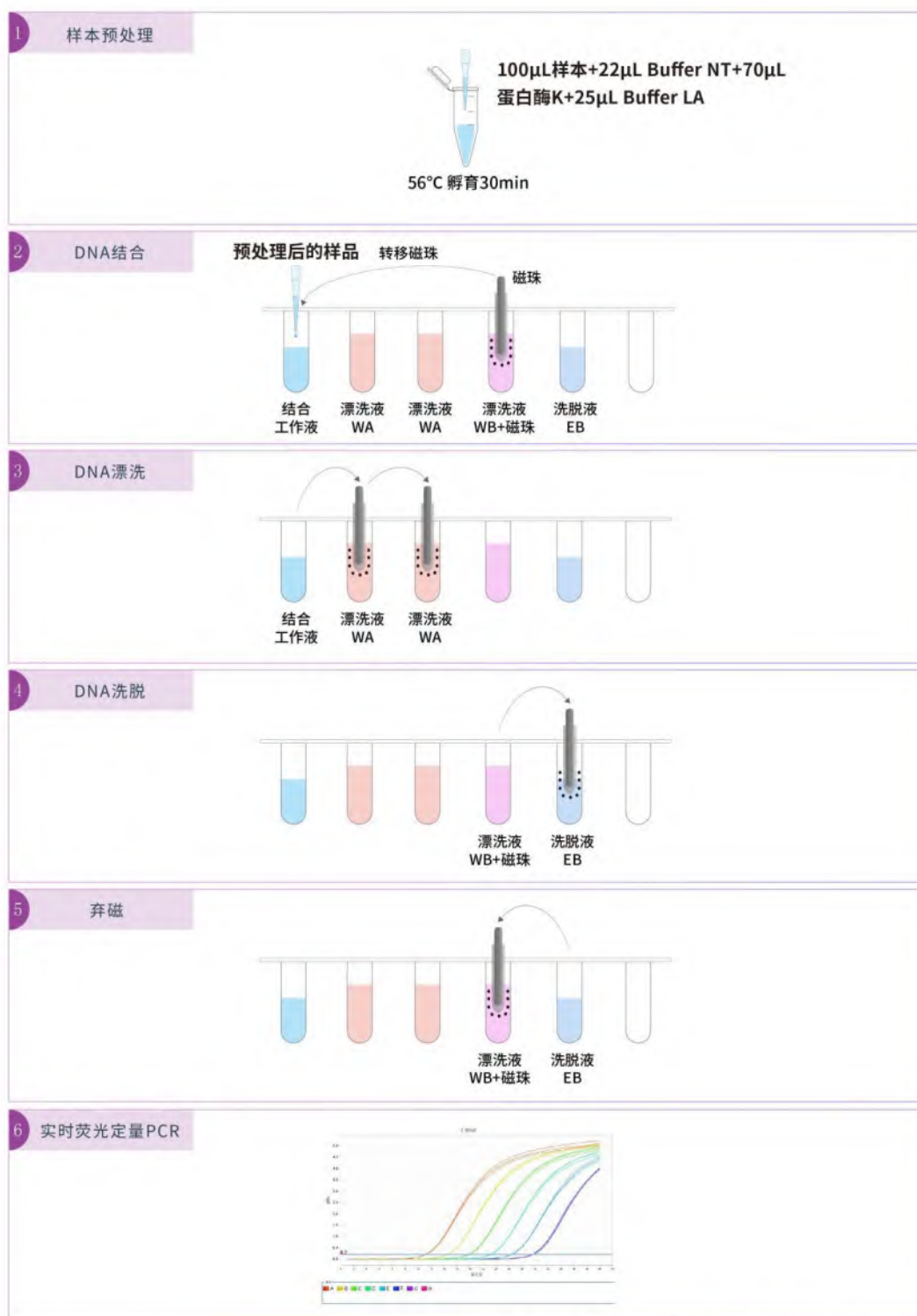
1. 加入 50~100 μL Buffer EB，用移液器轻轻吹打或涡旋振荡混匀 15~20 s 重悬磁珠，将离心管置于恒温混匀仪上 70°C，1000 rpm 孵育 10 分钟（若无恒温混匀仪，可使用恒温水浴锅进行孵育，孵育期间每 2~3 分钟涡旋混匀 1 次）；
2. 瞬时离心 15 s，将离心管静置于磁力架上，静置 2~5 分钟，待溶液澄清用移液器小心吸取上清至新的 1.5 mL 低吸附离心管中进行保存（**请避免吸到磁珠！**）；洗脱后的 DNA 可用于下一步 qPCR 检测。

注意事项：若 DNA 样本于 24 小时内进行 qPCR 检测，可暂存于 2~8°C；长期保存需置于 -20°C 中备用。

【自动化提取过程】

下述操作流程，适用于 **ACRO 自动化核酸提取仪** (Cat. No. OPE-32S)。

注意:如使用其他品牌的自动化核酸提取设备，具体操作可参考此操作说明书，结合相关仪器设定，进行调整。



*结合工作液:Buffer LB 400µL+异丙醇 180µL+CR Solution 3µL

实验操作流程图

仪器准备

1. 仪器使用前，用 75%乙醇擦拭仪器工作腔。
2. 关闭盖门，打开紫外灯程序，用紫外灯照射 15 分钟。

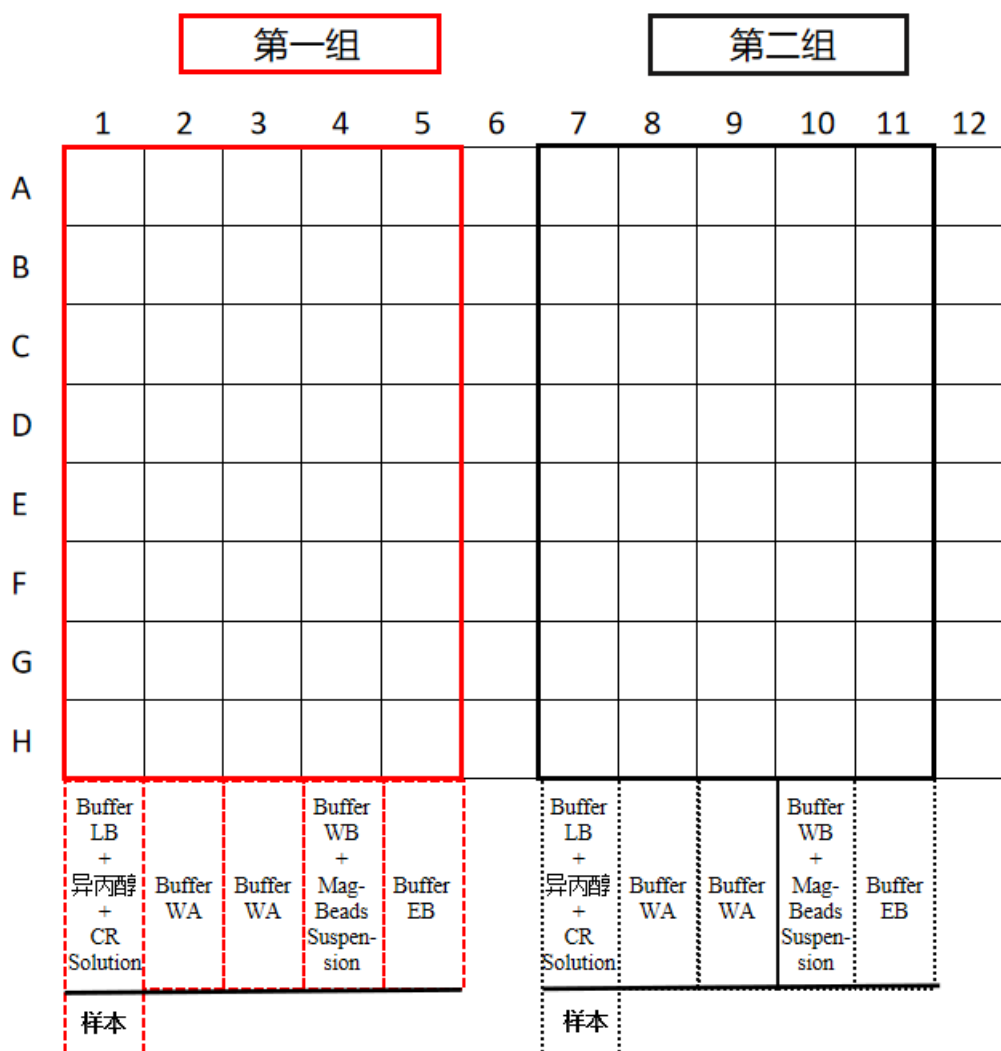
结合工作液的准备和分装

1. 根据实际检测需求，准备结合工作液。由于结合工作液的制备和加样过程会有损耗，故计算用量时可增加一个样品损耗数，实际配置数 $N=n+1$ ，其中 n 为样品数。单个样品需要 Buffer LB 400 μ L+异丙醇 180 μ L+CR Solution 3 μ L 共计 583 μ L。配置方法如下：

Kit Reagents	Volume for 1 sample	Volume for Binding Buffer
Buffer LB	400 μ L	400 μ L \times N
100% 异丙醇	180 μ L	180 μ L \times N
CR Solution	3 μ L	3 μ L \times N
Total	583 μ L	583 μ L \times N

2. 准备一个合适体积的 EP 管，按照上表加入对应体积的试剂后，充分震荡混匀。
3. 按照 **96 深孔板试剂分装示意图**将所需试剂加入深孔板中。
4. 在深孔板第 1 或者第 7 列加入结合工作液 583 μ L (Buffer LB 400 μ L、异丙醇 180 μ L、CR Solution 3 μ L)。
5. 在深孔板第 2 或者第 8 列加入 Buffer WA 700 μ L。
6. 在深孔板第 3 或者第 9 列加入 Buffer WA 700 μ L。
7. 在深孔板第 4 或者第 10 列加入 Buffer WB 700 μ L、MagBeads Suspension 25 μ L (**磁珠加入前需充分涡旋混匀**)。
8. 在深孔板第 5 或者第 11 列加入 Buffer EB 100 μ L。

注意事项：结合工作液分装前需充分混匀。试剂分装过程可使用多道移液枪利于快速操作。



96 深孔板试剂分装示意图

加样与上机

1. 将样本预处理（消化）后，离心管中全部液体加入到已分装试剂完成的深孔板**第 1 列**或者第 7 列中。
2. 将加样完成的深孔板放置到仪器固定位置，插入磁棒套，关闭仪器盖门，点击运行程序 **OPA_R005**。（此程序已预设**在 ACRO 自动化核酸提取仪 OPE-32S 中**）
注意事项：注意正确放置深孔板位置，注意检查磁棒套是否嵌入。
3. 程序运行完毕后，屏幕点击完成，取下磁棒套，取出深孔板，立即将第 5 列或者第 11 列中的 Buffer EB 移液至新的 1.5 mL 低吸附离心管或 PCR 管中进行保存，洗脱后的 DNA 可用于下一步 qPCR 检测。
注意事项：若 DNA 样本于 24 小时内进行 qPCR 检测，可暂存于 2~8℃；长期保存需置于-20℃中备用。移液过程可使用多道移液枪利于快速操作。
4. 实验完成后，使用 75%乙醇擦拭仪器工作腔。关闭盖门，在主界面打开紫外灯程序，使用紫外灯照射 30 分钟。
注意事项：建议两次实验间隔半小时以上，避免交叉污染。