



产品使用说明书

Rhinogen[®] Vero 细胞残留 DNA 检测试剂盒

货号：RA-IP16



目 录

| | |
|---------------------------------|---|
| 目 录 | 1 |
| 产品信息 | 2 |
| 试剂包装 | 2 |
| 产品介绍 | 2 |
| 存储条件 | 2 |
| 操作方法 | 3 |
| 设备准备 | 3 |
| 适用机型 | 3 |
| Vero DNA 定量参考品的稀释和标准曲线的制备 | 3 |
| 加样回收质控 ERC 的制备 | 4 |
| 阴性质控 NCS 的制备 | 4 |
| qPCR 反应体系 | 4 |
| qPCR 反应的加样 | 4 |
| qPCR 仪运行程序设置 | 5 |
| qPCR 结果分析 | 5 |
| 操作说明 | 5 |
| 相关产品 | 6 |
| 联系我们 | 7 |

产品信息

试剂包装 Rhinogen® Vero 细胞残留 DNA 检测试剂盒包装规格如下：

| 名称 | 货号 | 规格 |
|----------------------|----------|--------------|
| Vero 细胞残留 DNA 检测试剂盒 | RA-IP16 | 100T |
| 试剂盒组分： | | |
| Vero DNA 定量参考品 | RA-IP16A | 50µl*1vial |
| Vero qPCR Master Mix | RA-IP16B | 1.5ml*1vial |
| Vero 引物探针混合液 | RA-IP16C | 500µl*1vial |
| DNA 稀释液 | RA-IP16D | 1.5ml*3vials |

产品介绍 Rhinogen® Vero 细胞残留DNA 检测试剂盒利用Taqman 荧光探针原理，定量检测各种生物制品及药品的中间品、半成品和成品中残留的Vero 宿主细胞DNA，检测快速、特异性强、检测灵敏度高，最低检测限可以达到fg 级别。试剂盒配套有Vero DNA 定量参考品，已溯源至国家标准品。

本检测方法可溯源至中国药典方法，通则<3407>。

存储条件 采用干冰运输，收到产品后请立即置于-18℃及以下存储，有效期为12个月。

注：Vero 引物探针混合液需要避光存储。

操作方法

- 设备准备**
- ✓ 荧光定量 PCR 仪;
 - ✓ 掌上离心机;
 - ✓ 涡旋混合仪。

- 适用机型**
- ✓ 7500 Real-Time PCR System (AB);
 - ✓ StepOne Plus Real-Time PCR System (AB);
 - ✓ 7300 Plus Real-Time PCR System (AB);
 - ✓ QuantStudio 3 Real-Time PCR System (AB);
 - ✓ QuantStudio 5 Real-Time PCR System (AB);
 - ✓ 耶拿荧光定量 PCR 仪 qTOWER3 系列;
 - ✓ SLAN 96S;
 - ✓ LineGene9600 (博日)。

注: 其他机型可按照说明书试用。

Vero DNA 定量参考品的稀释和标准曲线的制备

Vero DNA 定量参考品浓度标注于管壁标签上, 请确认浓度后再进行稀释。用试剂盒中提供的 DNA 稀释液将 Vero DNA 定量参考品进行梯度稀释, 稀释浓度依次为 3000pg/μl、300pg/μl、30pg/μl、3pg/μl、0.3pg/μl、0.03pg/μl。具体操作如下:

1. 将试剂盒中的 Vero DNA 定量参考品和 DNA 稀释液从-20℃取出后置于冰上融化, 待完全融化后, 轻微振荡混匀, 快速离心 5s;
2. 取 7 支低吸附离心管, 分别标记为 ST0、ST1、ST2、ST3、ST4、ST5, ST6;
3. 每管分别加入 90μl DNA 稀释液;
4. 取 10μl 的 Vero DNA 定量参考品, 加入 ST0 管, 振荡混匀后短时间快速离心 5s, 重复 3 次以确保定量参考品与 DNA 稀释液充分混匀;
5. 按下表依次进行 7 次稀释操作, 稀释步骤同 4。

| 稀释管 | 稀释步骤 | 浓度 (pg/μl) |
|-----|--------------------------|------------|
| ST0 | 10μl DNA 定量参考品+ 90μl 稀释液 | 3000 |
| ST1 | 10μl ST0 + 90μl 稀释液 | 300 |
| ST2 | 10μl ST1 + 90μl 稀释液 | 30 |
| ST3 | 10μl ST2 + 90μl 稀释液 | 3 |
| ST4 | 10μl ST3 + 90μl 稀释液 | 0.3 |
| ST5 | 10μl ST4 + 90μl 稀释液 | 0.03 |
| ST6 | 10μl ST5 + 90μl 稀释液 | 0.003 |

- 注: 1) 已融化未使用的 DNA 稀释液可暂存于 2~8℃, 保存期限不超过 7 天;
2) 标准品现用现配。

加样回收 质控 ERC 的制备

根据需要设置 ERC 中的 Vero DNA 加标量（建议加标量设定为其样品历史无加标测试值的 2-30 倍），以制备加 30pg Vero DNA 量的供试品 ERC 为例，具体操作如下：

1. 取 100μl 供试品加入 1.5ml 低吸附离心管中；
2. 加入 10μl ST3，混匀，标记为供试品 ERC；
3. 样本 ERC 与同批供试品一起进行前处理，制备成供试品 ERC 纯化液。

阴性质控 NCS 的制 备

根据实验设置阴性质控，具体操作如下：

1. 取 100μl 供试品基质溶液（或样本稀释液）加入 1.5ml 低吸附离心管中，标记为阴性质控 NCS；
2. 阴性质控 NCS 和同批供试品一起进行前处理，制备成阴性质控 NCS 纯化液。

qPCR 反应 体系

1. 根据所要检测的标准曲线及待测样本数量，计算所需反应孔数：
反应孔数=（6 个浓度梯度的标准曲线样品+1 个空白对照 BLK+1 个阴性质控 NCS+供试品+供试品 ERC）×3
2. 根据反应孔数计算本次所需的 Vero qPCR Master Mix 和 Vero 引物探针混合液的总量：
Vero qPCR Master Mix 用量=（反应孔数+2）×15μl
Vero 引物探针混合液用量=（反应孔数+2）×5μl
3. 各试剂置于室温融化后，计算所需 Vero 引物探针混合液与 Vero qPCR Master Mix 的用量，然后将两试剂混合，配制所需要的反应混合液，轻微振荡混匀，快速离心 5 秒，然后按照下表所示加样：

| | |
|----------------|--|
| 标准曲线 | 20μl 反应混合液+ 10μl ST1/ST2/ST3/ST4/ST5/ST6 |
| BLK | 20μl 反应混合液+ 10μl DNA 稀释液 |
| NCS | 20μl 反应混合液+ 10μl NCS 纯化液 |
| 供试品 SAM | 20μl 反应混合液+ 10μl DNA 待测样本纯化液 |
| 供试品 ERC | 20μl 反应混合液+ 10μl 样本 ERC 纯化液 |

qPCR 反应 的加样

1. 取 96 孔 PCR 板，在所需各孔内先加入 20μl 反应混合液；
2. 按照下表，分别加入 BLK、NCS、SAM、ERC，并依次从高到低加入 10μl ST1、ST2、ST3、ST4、ST5、ST6 DNA 标准品溶液，所有加样均为 3 复孔；

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|------|------|------|---|---|---|---|---|---|-----|-----|-----|
| A | BLK | BLK | BLK | | | | | | | ST1 | ST1 | ST1 |
| B | NCS | NCS | NCS | | | | | | | ST2 | ST2 | ST2 |
| C | SAM1 | SAM1 | SAM1 | | | | | | | ST3 | ST3 | ST3 |
| D | SAM2 | SAM2 | SAM2 | | | | | | | ST4 | ST4 | ST4 |
| E | SAM3 | SAM3 | SAM3 | | | | | | | ST5 | ST5 | ST5 |
| F | ERC1 | ERC1 | ERC1 | | | | | | | ST6 | ST6 | ST6 |
| G | ERC2 | ERC2 | ERC2 | | | | | | | | | |
| H | ERC3 | ERC3 | ERC3 | | | | | | | | | |

3. 粘性膜封板，离心，确保试管中无气泡，待测；
4. 也可使用专用的 qPCR 微量反应管，加样方式同上。加样后盖紧试管盖离心，确保

试管中无气泡，待测。

| | |
|---------------------|---|
| qPCR 仪运行程序设置 | <p>以 AB 公司 7500 qPCR 仪、软件版本 2.0 为例：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 创建新运行程序，实验类型选择定量—标准曲线，试剂类型选择 TaqMan； 2. 选择检测探针，命名为 Vero-DNA，选择荧光报告基团为 FAM，淬灭基团为 TAMRA； 3. 根据样品加样位置选择相应孔位，标准品在 Task 一栏设置为 Standard，并在 Quantity 一栏中输入对应的浓度（单位为 pg/μl），其余测试品在 Task 一栏均设置为 Unknown； 4. 检测参比荧光为 ROX； 5. 设置三步法反应程序：37°C 2min；95°C 30s；95°C 10s，60°C 30s 采集荧光，40 个循环；反应体积为 30μl。 |
| qPCR 结果分析 | <p>以 AB 公司 7500 qPCR 仪、软件版本 2.0 为例：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 在 Analysis 的 Amplification Plot 面板中，将 Threshold 设置为 0.1，点击 Analyze，此时可初步查看扩增曲线的形态是否正常； 2. 在 Analysis 的 Standard Curve 面板中，可读取标准曲线的斜率（Slope）、截距（Intercept）、R2； 3. 在 Analysis 的 Amplification Plot 面板中选择 View Well Table 窗口，Quantity 一栏可读取无模板对照 BLK、阴性质控 NCS、待测样本、样本 ERC 的检测值，单位为 pg/μl； 4. 结果分析的参数设置需依据具体的机型及使用的软件版本，一般也可由仪器自动判读； 5. 根据待测样本和样本 ERC 的检测结果计算加样回收率，加样回收率要求在 50%~150%之间； 6. 阴性质控 NCS 的 ct 值应大于标曲最低浓度 ct 均值，无模板对照 BLK 的检测结果应为 Undetermined 或 ct 值比 ST6 ct 值靠后 3 个 ct。 |
| 操作说明 | <p>✓ 本产品仅供研究使用，不适用于人或本产品仅供研究使用，不适用于人或动物的诊断及治疗用途。</p> |

相关产品

| 产品名称 | 货号 |
|------------------------------|---------|
| CHO 宿主细胞蛋白检测试剂盒 | RA-IP01 |
| 宿主细胞残留 DNA 提取试剂盒（磁珠法） | RA-IP11 |
| CHO 细胞残留 DNA 检测试剂盒 | RA-IP12 |
| <i>E.coli</i> 残留 DNA 检测试剂盒 | RA-IP13 |
| HEK293 细胞残留 DNA 检测试剂盒 | RA-IP14 |
| 毕赤酵母残留 DNA 检测试剂盒 | RA-IP15 |
| SV40LTA&E1A 残留 DNA 检测试剂盒 | RA-IP17 |
| 质粒 DNA 残留检测试剂盒 | RA-IP18 |
| E1A 残留 DNA 检测试剂盒 | RA-IP19 |
| E1B 残留 DNA 检测试剂盒 | RA-IP20 |
| HEK293 残留 DNA 片段化分析检测试剂盒 | RA-IP21 |
| rcAAV-5/N 检测试剂盒（PCR-荧光探针法） | RA-IP22 |
| RCL 基因拷贝数检测试剂盒（RT-PCR 荧光探针法） | RA-IP23 |
| 宿主细胞残留 DNA 提取试剂盒（磁珠法-手动/自动） | RA-IP24 |
| 宿主细胞残留 DNA 提取试剂盒（预装） | RA-IP25 |
| 磁力架 | RA-IP26 |
| 全自动核酸提取仪 | RA-IP27 |

联系我们

如果您需要帮助，我们的客户支持专家可以通过电话和 email 为您提供帮助：

- 电 话: [0512-87663137](tel:0512-87663137)
 - 技术支持: techserv@rhinobio.com
-

RHINO BIO



上海瑞诺生物科技有限公司
苏州瑞特佰生物科技有限公司
网 址: www.rhinobio.com
电 话: 0512-87663137
邮 箱: techserv@rhinobio.com



公众号



联系客服

