
Auto-Mag® 磁珠法测序产物纯化试剂

(Auto-Mag® DTR)

使用说明书 (V-2.1)

产品目录号: S001-01, S001-02, S001-03 S001-04

目录

免责声明和安全信息	1
产品介绍	2
试剂盒组成成分和包装规格	2
保存方法及注意事项	2
试剂准备	2
附加信息	3
Auto-Mag®磁珠法测序产物纯化试剂操作程序	4
测序反应产物纯化操作步骤 (96 孔板)	4
测序反应产物纯化操作步骤 (384 孔板)	6
常见问题回答	7

免责声明和安全信息

该试剂盒仅限研究使用。不可用于诊断目的。所有生物样本都具有潜在传染性。使用试剂盒时请务必穿着合适的实验外套，一次性手套和护目镜。如需了解更多信息，请查阅相应的材料安全数据表 (MSDS)。

产品介绍

Auto-Mag® 磁珠法测序产物纯化试剂是基于超顺磁纳米磁珠和特殊缓冲液优化配置而成。能够特异性结合 Sanger 测序反应中的所有片段。通过三个简单步骤：结合，洗涤和洗脱，从 Sanger 测序反应混合物中去除多余的引物二聚体，盐和未结合的染料终止剂，快速完成测序产物的纯化。纯化后的产物可直接进行 3730XL 等遗传分析仪进行测序。Auto-Mag® 磁珠法测序产物纯化试剂具有的高灵敏度和结合能力，可降低 BigDye® 化学试剂的使用浓度，信号强且均匀，背景噪音极低，实现更长的连续读取长度。与基于 Sephadex 的纯化试剂相比，Auto-Mag® 磁珠法测序产物纯化试剂操作过程操作简单快速，无需离心，不仅适合手工操作处理样品，而且可适用于当前市场上的自动化平台进行高通量纯化。

产品特点

- 读取长度平均超过 900 个碱基，重测率较低
- 有效消除测序反应污染物
- 降低的 BigDye 使用量
- 可适用于自动化、高通量纯化操作
- 与任何类似产品相比，可显著节省高达 80% 的成本

产品用途

纯化测序反应产物。适合 ABI 和 MegaBACE 测序仪。

试剂盒组成成分和包装规格

产品目录号	S001-01	S001-02	S001-03	S001-04
Auto-Mag® 磁珠法测序产物纯化试剂	5 ml	50 ml	250 ml	500 ml
反应次数 — 96 孔板	500 次	5,000 次	25,000 次	50,000 次
反应次数 — 384 孔板	1,000 次	10,000 次	50,000 次	100,000 次

保存方法及注意事项

Auto-Mag® 磁珠法测序产物纯化试剂是常温运输，收到后可储存在 2-8°C，有效期 12 个月。不要冷冻。

准备试剂

1. 准确配制 85% 乙醇（由无水乙醇制备，请勿使用工业乙醇）

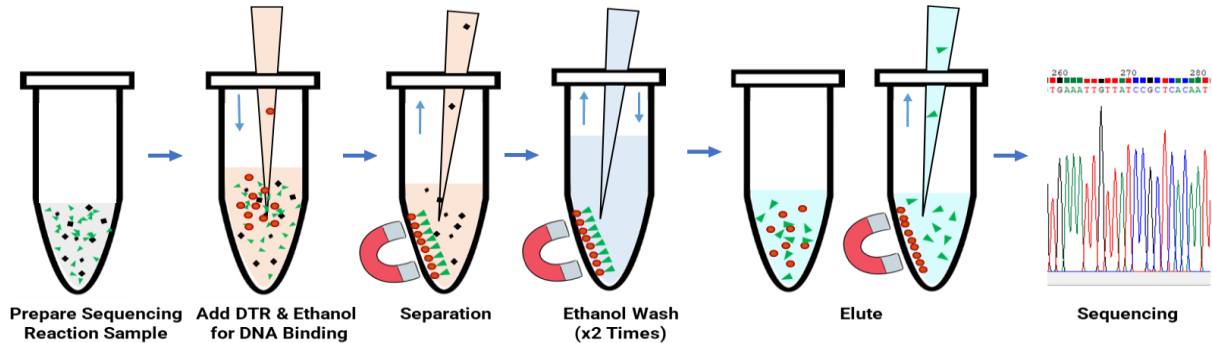
注意：因为一般量筒精度偏差较大，不建议使用量筒配制。可采用称重方法配制。如配制好 100 毫升 85% 乙醇：称重 63.2 克（80 毫升）100% 无水乙醇，加入 20 克（20 毫升）去离子水。总重 83.2 克。即为 100 毫升 80% 乙醇。乙醇有吸湿性，随着时间的推移，乙醇会蒸发并吸收水分。80%

乙醇需新鲜配制，盖紧，一周内使用。

2. 洗脱缓冲液或去离子水。（Tris (10 mM, pH 8.0) or TE (10 mM Tris, pH 8.1 mM EDTA)）

附加信息

1. Sanger 测序产物纯化步骤流程图解



1. 确认 Sanger 测序反应样本的体积。
2. 加入适量的 Auto-Mag® 磁珠法测序产物纯化试剂和 85%乙醇。
3. 磁分离。
4. 去除污染物，用 85% 乙醇洗涤磁珠/DNA 两次以上。
5. 洗脱纯化的测序产物。
6. 将洗脱液转移至新的96 孔板，并准备上机测序。

2. 无需磁分离装置手动操作

使用Auto-Mag® 磁珠法测序产物纯化试剂操作时，各步骤需要兼容的磁分离装置来沉淀磁性颗粒。如果不使用磁分离装置的情况下的手动操作纯化，可以采用离心方法使磁性颗粒形成沉淀和液体分离。可以将样品管或 96 孔板离心 30秒（单管：全速；96 孔板：3,000 x g。所有过程均在室温（15~25 °C）下进行。

Auto-Mag® 磁珠法测序产物纯化试剂操作程序

用户自备材料和设备

- 采用 96 孔板格式：96 孔 PCR 反应板和适当的磁分离装置。
- 采用 384 孔板格式：384 孔板（40微升孔容量）和适当的磁分离装置。
- 试剂储液槽。
- 实验室混合器、涡流器或类似设备。
- 85% 乙醇（由无水乙醇制备。请勿使用工业乙醇）。
- 洗脱缓冲液或去离子水。
- 校准良好的移液器和一次性移液器吸头。

操作前准备工作

- 配制 85% 乙醇。
- 使用前将 Auto-Mag® 磁珠法测序产物纯化试剂放置于室温平衡至少 30 分钟。
- 涡旋振荡悬浮液 Auto-Mag® 磁珠法测序产物纯化试剂。

测序反应产物纯化操作步骤（96 孔板）

使用 Auto-Mag® 磁珠法测序产物纯化试剂对 Sanger 测序反应产物进行纯化仅需三个简单步骤：结合-洗涤-洗脱, 完成后即可上机测序。

1. 将 Auto-Mag® 磁珠法测序产物纯化试剂完全悬浮以保证磁珠混匀。
2. 加 10微升Auto-Mag® 磁珠法测序产物纯化试剂到每个含测序产物的孔中。
注意：无论测序反应的体积大小。均只需使用 10微升Auto-Mag® 磁珠法测序产物纯化试剂。
3. 根据下表，参考测序反应的体积，加入相应体积的 85% 乙醇。

测序反应体积（微升）	需加 85% 乙醇的体积（微升）
5	30
10	40
15	50
20	60
25	70
注意：请勿使用工业乙醇。新鲜配制的 85% 乙醇。盖紧盖子可存放 7 天内使用	

-
4. 通过移液器上下吹吸 7~10 次，彻底混合样品。
 5. 将 96 孔样品板放置于磁分离装置上静置 3~5 分钟，或待溶液完全澄清。
 6. 保持样品板在磁分离装置上，小心吸弃所有的液体。吸取液体时请勿触及管壁上的磁性颗粒。
 7. 保持样品板在磁分离装置上，加入 100 微升 85% 乙醇至各孔中。不必悬浮磁珠，等待至少 30 秒。
 8. 吸弃所有的液体。吸取液体时请勿触及管壁上的磁性颗粒。

注意：液体应尽可能全部吸弃，残留的液体可携带荧光染料，干扰下游步骤。
 9. 重复步骤 7~8 一次。
 10. 将样品板保持在磁分离装置上，室温放置 5 分钟，使残留乙醇挥发，必要时用移液器除去残留的液体。

注意：晾干磁珠十分重要。但过分干燥可降解标记的荧光染料。
 11. 取下磁分离装置上的 96 孔样品板，加入 40 μ L 去离子水，用移液器上下吹吸 20 次，重新完全悬浮磁性颗粒。
 12. 放室温反应 5 分钟。
 13. 将样品板放置于磁分离装置上静置 3~5 分钟，或待溶液完全澄清。
 14. 用移液器取出和转移 30~35 微升上清液到新的用于测序仪的 96 孔板。洗脱液中含有纯化样品已可上测序仪进行测序操作。

注意：纯化的测序样品可在 4 $^{\circ}$ C 保存 24 小时。如不能在 24 小时内上机测序，可用封板膜封严，放置 -20 $^{\circ}$ C 可保存一个月。

测序反应产物纯化操作步骤 (384 孔板)

使用 Auto-Mag® 磁珠法测序产物纯化试剂对 Sanger 测序反应产物进行纯化仅需三个简单步骤：结合-洗涤-洗脱, 完成后即可上机测序。

1. 将 Auto-Mag® 磁珠法测序产物纯化试剂完全悬浮以保证磁珠混匀。
2. 加 5 微升 Auto-Mag® 磁珠法测序产物纯化试剂到每个含测序产物的孔中。

注意：无论测序反应的体积大小。均只需使用 5 微升 Auto-Mag® 磁珠法测序产物纯化试剂。

3. 根据下表，参考测序反应的体积，加入相应体积的 85% 乙醇。

测序反应体积 (微升)	需加 85% 乙醇的体积 (微升)
5	15
10	21
15	28
注意：请勿使用工业乙醇。新鲜配制的 85% 乙醇。盖紧盖子可存放 7 天内使用	

4. 通过移液器上下吹吸 7~10 次，彻底混合样品。
5. 将 384 孔样品板放置于磁分离装置上静置 3~5 分钟，或待溶液完全澄清。
6. 保持样品板在磁分离装置上，小心吸弃所有的液体。吸取液体时请勿触及管壁上的磁性颗粒。
7. 保持样品板在磁分离装置上，加入 30 微升 85% 乙醇至各孔中。不必悬浮磁珠，等待至少 30 秒。
8. 吸弃所有的液体。吸取液体时请勿触及管壁上的磁性颗粒。
注意：液体应尽可能全部吸弃，残留的液体可携带荧光染料，干扰下游步骤。
9. 重复步骤 7~8 一次。
10. 将样品板保持在磁分离装置上，室温放置 5 分钟，使残留乙醇挥发，必要时用移液器除去残留的液体。
注意：晾干磁珠十分重要。但过分干燥可降解标记的荧光染料。
11. 取下磁分离装置上的 96 孔样品板，加入 20 μ L 去离子水，用移液器上下吹吸 20 次，重新完全悬浮磁性颗粒。
12. 放室温反应 5 分钟。
13. 将样品板放置于磁分离装置上静置 3~5 分钟，或待溶液完全澄清。
14. 用移液器取出和转移 15-18 微升上清液到新的用于测序仪的 96 孔板。洗脱液中含有纯化样品已可上测序仪进行测序操作。

注意：纯化的测序样品可在 4°C 保存 24 小时。如不能在 24 小时内上机测序，可用封板膜封严，放置 -20°C 可保存一个月。

常见问题回答

请参考下列列表解决纯化过程所碰到的问题。如需进一步帮助，请通过电话联系技术支持。若您对试剂盒存在问题或建议，或您在分子生物学碰到问题，都请您联系我们。我们将竭尽全力为您排忧解难。

现象	产生原因	建议方法
染料斑点	测序反应上清液未完全去除	确保去除板每个孔中的任何液滴。
	测序反应使用 BigDye 太多。	降低每个反应使用BigDye 浓度。
	洗涤不充分	在洗涤步骤 7~8 中，可采用重新悬浮磁珠以便更有效地清除残留的荧光染料
测序信号值低	乙醇浓度不正确	使用正确浓度的乙醇：（85%）
	磁珠丢失。	确保在吸弃液体过程中不要移除磁珠。
	磁珠未充分结合测序产物	在结合步骤增加反应时间和混悬次数