
Auto-Mag® 高分子量DNA片段分选纯化回收试剂（磁珠法） (Auto-Mag® HMW DNA Size Select)

使用说明书 (V-2.1)

产品目录号: S005-01, S005-02,

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 | 3 |
| 附加信息 | 3 |
| Auto-Mag® 高分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂（磁珠法）操作程序 | 4 |
| 高分子量 (HMW) DNA 大小分选操作步骤 | 5 |
| 短片段 DNA 回收补充操作步骤 | 7 |
| 常见问题回答 | 8 |

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® 高分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂（磁珠法）是一款创新且实用的试剂，采用先进的纳米磁珠技术，高效实现高分子量（HMW）DNA 片段的分选、纯化和回收。其操作设计允许用户通过精确调整试剂与样品的体积比例，快速有效地去除基因组 DNA 样本中的 DNA 短片段，选择性地回收和保留较大的 DNA 片段（例如超过 5 kb、10 kb、20 kb 或 30 kb），以满足 PacBio SMRT 和 Oxford Nanopore 等第三代长读测序平台的严格要求。

第三代测序技术需要高质量、高分子量的 DNA 模板，以确保结果的准确性和可靠性。然而，由于样本质量不佳或在提取和储存过程中发生的 DNA 分子的部分降解，基因组 DNA 样本经常受到短片段的污染。这些短片段会显著影响长读测序的准确性，因此必须加以去除。Auto-Mag® 高分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂通过选择性回收高质量的 HMW DNA 并去除不必要的短片段，成功解决了这一问题。通过富集大 DNA 片段，它显著提高样本质量，优化测序性能，并产生更长的读取长度和更高的准确性。

Auto-Mag® 高分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂展现了卓越的适应性，在 DNA 样本浓度范围为 10 至 150 ng/μl 时表现出最佳性能。其先进纳米磁珠技术无需依赖离心或过滤操作，简化了工作流程并提升了效率。该产品在设计时充分考虑了灵活性和便利性，既支持手动操作，也可以与自动液体处理系统无缝衔接。这使其成为研究人员获取高质量、高分子量 DNA 的可靠和高效的解决方案，完美契合高通量长读取测序工作流程的需求。

产品特点

- 适用于 HMW DNA, 片段化的 DNA, 和大分子量 PCR 扩增产物
- 去除短 DNA 片段、杂质和不需要的反应成分
- 有效纯化和回收 HMW DNA、5kb 或更长的 dsDNA 片段。
- 预期回收率：高达 90%
- 改善长读测序的读取长度。
- 兼容手动和自动处理且经济高效。

产品用途

高分子量基因组DNA纯化和大小分选。

试剂盒组成成分和包装规格

| 产品目录号 | S005-01 | S005-02 |
|------------------------------------|---------|---------|
| Auto-Mag® 高分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂（磁珠法） | 10 ml | 100 ml |
| DNA 解离液 | 10 ml | 100 ml |

保存方法及注意事项

Auto-Mag® 高分子量DNA片段分选纯化回收试剂（磁珠法）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 80% 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 80% 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。

附加信息

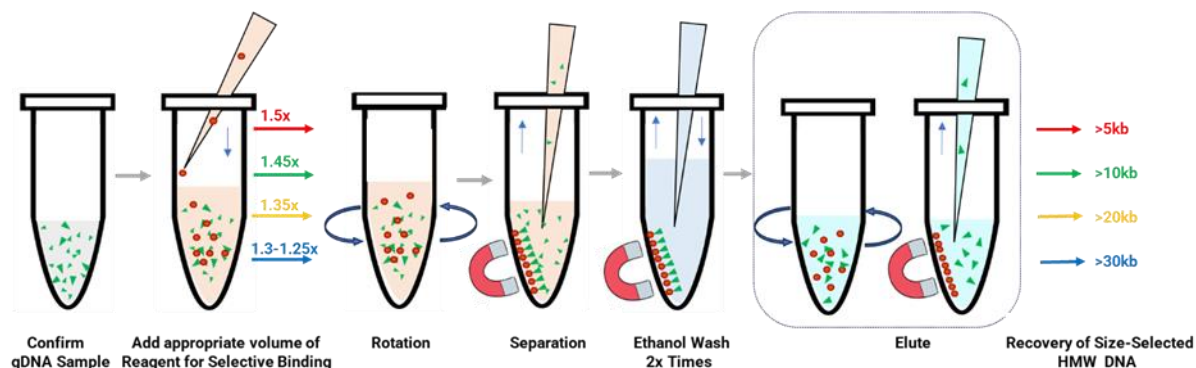
1. 高分子量DNA异质性和粘度

Auto-Mag® 高分子量DNA片段分选纯化回收试剂的DNA分选精度和回收效率在一定程度上取决于输入DNA是否均匀且完全溶解。HMW gDNA有时在提取后难以重新溶解，导致不均匀或含有粘性胶状物。此类样品可能导致产量低和DNA残留量短。如果HMW gDNA样品不均匀或含有粘性胶状物，我们建议在开始尺寸选择之前用26G针头剪切样品2-5次。可以通过进行三次浓度测量并验证浓度CV是否小于10%来评估样品的均匀性。

2. 移液注意事项

添加、混合样品时，请使用宽口径移液器吸头。从微量离心管或板孔中取出液体时，不要搅动珠子。小心地将移液器吸头插入管壁以分配，同样，通过移液从液面除去液体。

3. 高分子量DNA分选纯化流程图



1. 确认输入 HMW DNA 样本的质量和体积
2. 添加 Auto-Mag® 高分子量DNA片段分选纯化回收试剂，室温下孵育（15-25°C）
3. 将样本与顺磁珠结合，弃去上清液
4. 用 80% 乙醇清洗珠子以去除污染物
5. 洗脱并回收大小选择的 HMW DNA
6. 将洗脱液转移到新容器中，准备用于下一次应用。

Auto-Mag® 高分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂（磁珠法） 操作程序

用户自备材料和设备

- 采用单管形式纯化：无核酸酶 1.5~2.0 ml 管和磁分离架。
- 采用 96 孔板格式：96 孔 PCR 反应板和适当的磁分离装置。
- 96 孔板封板膜
- 200µl 宽口径移液器吸头
- 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 80% 乙醇。
- 使用前将 Auto-Mag® 高分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂放置于室温平衡至少 30 分钟。
- 涡旋振荡悬浮液 Auto-Mag® 高分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂。
- 检查移液器并确认其已正确校准。

高分子量 DNA 样本质量控制

长读测序需要高质量、高分子量 (HMW) DNA。在进行 DNA 清理之前，需要评估输入 DNA 的数量和大小分布，以确定其是否适合该方案。

- 使用合格的 HMW DNA 分离试剂盒分离 HMW gDNA，50% 的 HMW DNA 应 >30 kb。
- 应使用 Qubit dsDNA 广谱检测或同等产品测量 DNA 浓度，浓度在 5–150 ng/µl 之间。如果 DNA 浓度超过 150ng/µl，请使用 TE 缓冲液 (pH 8)、洗脱缓冲液或水稀释样品。
- DNA 样品：包括 HMW DNA、碎片 DNA、剪切 DNA 或部分降解的基因组 DNA，应置于 DNA 洗脱缓冲液、TE 缓冲液 (pH 8.0) 或水中，浓度在 10–150 ng/µl 之间。如果不确定缓冲液成分或 DNA 不在洗脱缓冲液中，请使用 1X Auto-Mag® X-Pure Size Select 或 AMPure XP 珠子进行纯化，并在洗脱缓冲液或等效低盐缓冲液（即 TE 缓冲液、10 mM Tris-HCl、pH 8.0 或水）中洗脱。
- 样品量：虽然起始样品量可以是大于 10µl 的任何体积。但是，回收的 gDNA 的大小范围对试剂与样品的体积比变化很敏感。使用较小的样品量可能会增加回收的 DNA 因取样误差而发生尺寸偏移的可能性。建议使用 50µl 的样品。如果必须使用较小的样品量，请参考与回收 DNA 的大小范围相对应的试剂与样品的体积比，并使用更精确的移液器。

高分子量 (HMW) DNA 大小分选操作步骤

本操作程序描述了从未片段化的高分子量 (HMW) 基因组 DNA、剪切的基因组 DNA 片段或部分降解的基因组 DNA 样本中去除短 DNA 分子的工作流程。通过调整试剂与样本的比例，可以回收所需大小范围的 HMW DNA 片段。回收的 HMW DNA 也会在此过程中被清洗，这有助于去除样本中的污染物。

1. 将 Auto-Mag® 高分子量DNA片段分选纯化回收试剂（磁珠法）完全悬浮以保证磁珠混匀。
2. 用短暂涡旋或移液器混合样本，使溶液中的 DNA 均质化。将DNA 浓度调整在10–150 ng/微升之间。
3. 将 50 微升 DNA 样品到加到 1.5 毫升小离心管，或 96 孔板中。如果样品不足 50 微升，用去离子水补足至 50 微升。
4. 根据下表，向样品加入适量的Auto-Mag® 高分子量DNA片段分选纯化回收试剂（磁珠法）。

| 需要去除的短 DNA 片段的大小范围 | 高分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂/样本的比例 | 高分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂用量（微升） |
|--------------------|---------------------------|---------------------------|
| < 5 kb | 1.5 x | 75µl |
| < 10 kb | 1.45 x | 72.5µl |
| <20kb | 1.35x | 67.5µl |
| <30kb | 1.3-1.25x* | 65-62.5µl* |

* 筛选回收 30kd 以上的 DNA 片段时，样本中 30kd 以上 DNA 的浓度和含量可能会影响筛选结果和回收率，有时需要稍微调整试剂与样本的比例以便收获所需的 DNA。

5. 使用宽口径移液器吸头，通过移液器上下吹吸 15 次，彻底混合样品。
6. 室温放置 至少15 分钟。
7. 将样品放置于磁分离装置上静置 5 分钟，或待溶液完全澄清。

注意：磁分离时间可能与磁分离装置的强度和样品量有关。如有必要，用宽口径移液器吸头轻轻上下移液两次以加速磁珠分。但请勿触及已靠壁的磁珠。

8. 保持样品在磁分离装置上，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。

注意：上清液中含有未结合的短片段DNA，如需回收未结合的DNA，请将上清液转移至新管或96孔板中。参考短片段DNA回收方法回收小片段DNA。否则丢弃上清液。

9. 保持样品在磁分离装置上，加入 200微升80%乙醇。不必悬浮磁珠，浸泡至少 30 秒。然后吸弃所有的液体。吸取液体时请勿触及管壁上的磁性颗粒。
10. 重复步骤 9 两次。
11. 将样品保持在磁分离装置上，室温放置 3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：完全除去所有的液体是非常重要的。

12. 取下磁分离装置上样品，加入 20-100微升DNA解离液，确定靠壁的磁珠团块能完全浸泡在被解离液中，不要悬浮磁珠。在室温下静置 5 分钟。

-
13. 样品孵育 5 分钟后，用宽口径移液器吸头轻轻上下移液 15 次，以确保磁珠完全悬浮在洗脱缓冲液中。在室温下再次孵育样品 5 分钟。
 14. 将样品板放置于磁分离装置上静置 5 分钟，或待溶液完全澄清。
 15. 将洗脱液转移到合适的储存容器中，并使用 NanoDrop 和 Qubit 系统分析 DNA 的回收率和纯度。
 16. 纯化回收的高分子量 DNA 可在 4°C 的洗脱缓冲液中保存数月。长期保存时请保持在 -20°C。避免反复冻融，因为这会降解高分子量 DNA。

短片段DNA回收补充操作步骤

以下操作程序是用于从去高分子量DNA分选过程中收集的含除DNA 短片段的上清液中回收所有DNA片段。

其他所需材料和设备：

Auto-Mag® DNA 片段分选纯化回收试剂（磁珠法）（目录：AMD-S003）或兼容试剂。

回收操作前准备工作

- 配制 80% 乙醇。
- 使用前将 Auto-Mag® 高分子量DNA片段分选纯化回收试剂放置于室温平衡至少 30 分钟。
- 涡旋振荡悬浮液 Auto-Mag® 高分子量 DNA 片段分选纯化回收试剂。

回收操作步骤

1. 确定来自高分子量（HMW）DNA 大小分选操作步骤第 8 步骤获得的上清液体积。
2. 向样品加入等体积的 Auto-Mag® DNA 片段分选纯化回收试剂。
3. 用移液器吹打 10 次混匀。室温放置 10 分钟。
4. 将 样品放置于适当的磁分离装置上静置 3~5 分钟，或待溶液完全澄清后。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。
5. 保持样品在磁分离装置上，加入 200 微升新鲜配制的 80% 乙醇漂洗磁珠，不必悬浮磁珠，室温温育 30 秒，吸弃所有的液体。吸取液体时请勿触及管壁上的磁性颗粒。
6. 重复步骤 5 一次。
7. 保持样品在磁分离装置上，室温下开盖 5分钟以晾干磁珠。

注意：完全除去所有的液体是非常重要的。必要时用移液器除去残余液体。

8. 取下磁分离装置上的样品，加入 20~50 微升解离液。移液器吹打 20 次重新悬浮的磁性颗粒。
9. 室温放置 5 分钟。
10. 将样品重新放置于适当的磁分离装置上静置 5分钟，或待溶液完全澄清。
11. 用移液器转移上清液到新的 1.5 毫升小离心管，或 96 孔板。纯化回收的 DNA可放置-20C 储存。

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。我们将竭尽能力为您排忧解难。

| 现象 | 产生原因 | 建议方法 |
|-----------|---------------|---|
| 纯化回收率低 | gDNA高度碎片化。 | 如果 样品中大部分DNA 不是 HMW，回收率会很低。确认 50% 的输入 DNA 应 ≥ 30 kb |
| | 输入 DNA 的浓度过低 | 使用 Qubit dsDNA 广谱测定或同等方法验证输入 gDNA 浓度。尝试将输入 DNA 浓度提高至最高 150 ng/ μ l。 |
| | 磁珠丢失 | 如果在去除上清液的过程中磁珠被吸到吸头中，与这些磁珠结合的核酸也会丢失。缓慢吸出并尽可能多地去除上清液.而不干扰磁珠。 |
| | 试剂混合不充分 | 在磁珠结合混合和洗脱混合过程中需充分混合。以确保磁珠充分重悬。 |
| 片段大小选择不正确 | 操作误差 | 确保使用准确的移液器，各操作步骤正确。 |
| | 样品/试剂体积比例不对 | 使用本手册中概述的体积比。 |
| | 用于洗涤步骤的乙醇浓度不足 | 使用新鲜配制的 80% 乙醇。随着时间的推移，乙醇通过蒸发和吸收大气中的水而变得更加稀释。因此，部分DNA沉淀进入溶液，DNA 片段被洗掉。 |
| | 洗脱缓冲液量不足 | 解离第一步时磁珠必须被洗脱缓冲液完全覆盖 |
| | 磁珠干燥过度 | 室温下干燥磁珠的时间不要超过 15 分钟。过度干燥可能会导致洗脱效率降低。 |
| 干扰后续应用 | 乙醇残留 | 确保在最后的洗涤步骤后除去所有乙醇。在室温下干燥磁珠 5~10 分钟。 |
| 磁珠残留 | 磁分离时间太短 | 增加分离时间，使磁珠完全被磁分离装置吸引。 |