

---

## Auto-Mag® DNA快速标准化试剂盒（磁珠法）

（Auto-Mag® DNA Normalization Kit）

使用说明书（V-2.1）

产品目录号：S006-00, S006-01, S006-02, S006-01P, S003-02P

### 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® DNA 快速标准化（磁珠法）操作程序	4
gDNA 快速标准化操作步骤(96 孔板)	4
PCR 扩增产物快速标准化操作步骤(96 孔板)	6
未结合 DNA 回收”操作说明	8
常见问题回答	9

### 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® DNA 标准化（均一化）试剂盒是一种基于磁性珠技术实现DNA定量和浓度标准化的解决方案，无需额外的DNA定量和稀释步骤。即可从DNA含量各不相同样本中快速回收预定量的DNA。这款试剂盒可用于基因组DNA、PCR扩增产物、DNA片段样品的标准化。

该试剂盒的核心技术是其创新的磁性珠技术，这些磁性珠具有有限的DNA结合能力。一旦磁性珠被样本中的目标DNA饱和，任何多余的未结合DNA将被分离并清洗掉，在进行DNA标准化操作时，只需向DNA样本中添加特定量的微珠，即可分离回收预期量的DNA。按照标准操作程序，从基因组DNA或PCR扩增产物样品可以回收400 ngDNA。根据需要，用户可以调整加入的磁珠的量或修改洗脱缓冲液的体积，以满足特定的DNA产量或浓度要求。标准化后的DNA可立即用于各种应用，包括PCR、测序、NGS文库制备及其他分子生物学工作流程。

传统的DNA标准化工作流程通常需要标准曲线与已知浓度的DNA样本，这一过程往往费时费力且试剂消耗较大。Auto-Mag® DNA标准化试剂盒简化了这一过程，通过三个简单步骤（结合、洗涤、回收）即可获得预期的DNA回收量。它为研究人员提供了一种可靠、高效且经济的解决方案，帮助简化DNA标准化，同时保持工作流程的精确性和一致性。

该协议适用于手动和自动化工作流程，支持96孔板用于高通量自动化或单管用于手动处理。为了提供更多灵活性，该试剂盒额外提供有标准化过程中未结合的DNA回收操作方法和试剂（Auto-Mag® PCR-Pure试剂，根据需要提供），用户可以从标准化后的样品中回收未结合的DNA。

## 产品特点

- 快速可靠的定量和标准化：高效定量和标准化 gDNA、PCR 扩增子或 DNA 片段。
- 一致的结果：实现可重复的标准化结果（基因组 DNA：~400 ng，PCR 产物：~400 ng）。
- 多种样品处理：适用于来自不同来源的混合 DNA 样品。
- 无需额外步骤：无需离心、过滤或标准曲线。
- 双重功能：DNA标准化和PCR后纯化，有助于缩短样品处理时间
- 工作流程灵活性：兼容手动和自动化工作流程。
- 未结合 DNA 回收：包括用于回收过量未结合 DNA 的试剂（目录号 S006-01P 和 S006-02P）。

## 试剂盒组成成分和包装规格

产品目录号	S006-00	S006-01	S006-02	S006-01P	S006-02P
规格（次）*	10	96	384	96	384
C-7 磁珠（Auto-Mag® C-7）	0.25 ml	2 ml	8 ml	2 ml	8 ml
结合液（NC Buffer）	0.6 ml	6 ml	25 ml	6 ml	25 ml
DNA 解离液（Elution Buffer）	1 ml	10 ml	40 ml	10 ml	40 ml
DNA 回收试剂（Auto-Mag® PCR-Pure）	-	-	-	10 ml	40 ml
*反应次数以50µl gDNA样本量计算					

## 保存方法及注意事项

Auto-Mag® DNA 标准化试剂盒在环境温度下运输。所有成分在适当储存的情况下均可稳定保存 12 个月：Auto-Mag® C-7 可在室温（15-25°C）下保存 12 个月，为延长保质期，建议在 2-8°C 下储存，所有其他成分均可在室温下储存。

在运输或储存在凉爽的环境条件下，NC 缓冲液中可能会形成沉淀。检查缓冲液，如有沉淀，将缓冲液加热至 37°C 并轻轻摇晃，以溶解沉淀，然后使用。

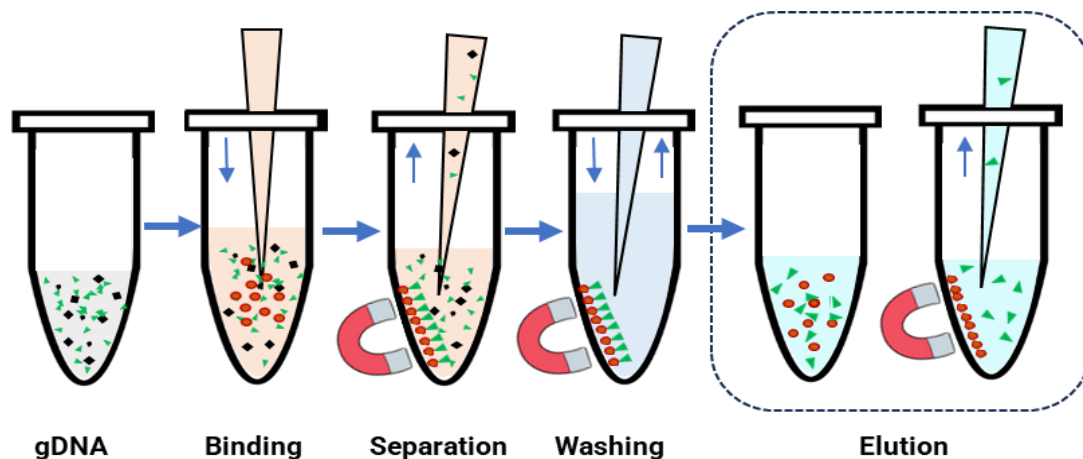
## 准备试剂

### 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. gDNA 标准化步骤流程图解



1. 确认gDNA样本的体积。
2. 将 gDNA 与磁珠结合。。
3. 磁分离，去除污染物和多余的 gDNA 。
4. 用 85% 乙醇洗涤磁珠/DNA 三次以上。
5. 洗脱标准化的gDNA。

---

# Auto-Mag® DNA 快速标准化操作程序

## 用户自备材料和设备

- 采用单管形式：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，或容量大于 300 微升圆底微量滴定板和适当的磁分离置。
- 96 孔板封板膜
- 实验室混合器、涡流器或类似设备。
- 80% 乙醇（由无水乙醇制备。请勿使用工业酒精）。
- 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。
- 如试剂保存在 4°C 时，使用前将试剂放置于室温平衡至少 30 分钟。
- 涡旋振荡充分混合 Auto-Mag® C-7 磁珠悬液。

## 基因组 DNA (gDNA) 标准化操作步骤

标准化使用的磁珠具有有限的结合表面。使用 20 微升的 Auto-Mag® C-7 磁珠，可以从 50 微升的 gDNA 样本中回收约 400 ng 的 gDNA。然而，DNA 含量较低的样本或提取方法的不同可能会影响磁珠的完全饱和和结合能力。为了实现最佳标准化效果，50 微升样本中的 gDNA 总含量应至少大于 1500 ng。如果样本的 DNA 总量低于推荐的含量，可能会因磁珠未能完全饱和而导致回收量的差异增大。因此，建议用户预先测试一小部分样本，确保能够获得准确的标准化结果和所需的 DNA 回收量。如有需要，可通过微调磁珠体积来调整回收量。如需进一步帮助，请联系公司的技术支持团队。

### 使用 96 孔板操作说明（回收~400ng gDNA）

1. 将 50 微升 gDNA 样品加入到 96 孔板的孔中。如果样品量少于 50 微升，用洗脱缓冲液或无核酸酶水将样品体积调整为 50 微升。并将此板标记为“样品板”。
2. 向每个样品孔中添加 50 微升结合液（NC Buffer）和 20 微升充分混悬的 Auto-Mag® C-7 磁珠悬液。

*建议：在同时进行多个样品操作时，可预先按每个样品需 50 微升结合液（NC Buffer）和 20 微升 Auto-Mag® C-7 磁珠悬液的比例将两者配成混合液。混匀，取 70 微升混合物加到每个样品中。*

3. 通过移液器上下 20 次混合样品，室温放置 8 分钟。
4. 将“样品板”放置于适当的磁分离装置上静置 2~5 分钟，或待溶液完全澄清。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：如果需要回收未结合的 DNA，请将上清液转移到新的 96 孔板中。将板标记为“DNA 回收板”。回收操作请参阅“未结合 DNA 回收”操作说明。*

5. 保持样品板在磁分离装置上，加入 200 微升新鲜配制的 80% 乙醇，不必悬浮磁珠，室温放置 30 秒，吸弃所有的液体。吸取液体时请勿触及磁珠。

6. 重复步骤 5，进行第二次和第三次 80% 乙醇冲洗。

7. 保持样品板在磁分离装置上，室温放置 5 分钟以晾干磁珠。

*注意：完全除去所有的液体非常重要。必要时用移液器除去残余液体。但要注意不要过度干燥磁珠。*

8. 取下磁分离装置上的样品板，向每个样品中加入 40 $\mu$ l 洗脱缓冲液，通过移液器上下吹打 20 次混悬磁珠。

*注意：可以采用 96 孔板封板膜封板，涡旋混匀 20 秒混悬磁珠。*

9. 用封板膜封板封板，放在 55 $^{\circ}$ C 孵育 5 分钟。

10. 去除封板膜，再次通过移液器上下吹打 20 次混合样品。

11. 将样品板放回磁分离装置上，静置 5 分钟或直到磁珠完全从溶液中分离出来。

12. 将含有标准化好的 DNA 洗脱液转移至新的适当的储存容器中，可放在 -20 $^{\circ}$ C 下保存，或直接用于后续应用。

*注意：转移洗脱液时，请勿带入任何 Auto-Mag $^{\circ}$  C-7 珠*

---

## PCR 扩增产物快速标准化操作步骤

该方案可以直接应用于原始PCR反应样本，实现PCR扩增产物的高通量标准化。使用10 μL的磁珠，可以快速从25–50微升的PCR反应样本中回收约400 ng的PCR扩增产物。

在PCR扩增反应过程中，多种因素，如PCR试剂类型、Taq酶、模板质量、引物以及PCR产物的大小等，都会影响PCR扩增效率。Auto-Mag® DNA标准化试剂能够对使用各种PCR试剂产生的PCR产物进行标准化。然而，不同制造商的PCR试剂成分存在差异，虽然这些差异不会影响PCR产物的标准化，但可能会干扰标准化过程中PCR产物的回收量。为了最大限度地减少因PCR试剂成分差异而导致的标准化和回收量变化，建议避免在同一标准化操作中使用来自不同制造商的试剂生成的PCR产物。

此外，建议用户在操作前先测试自己的一小部分PCR样本，以确保能够得到正确的标准化结果和所需的PCR产物回收量。如果需要，用户可以通过微调加入的磁珠体积来获得所需的PCR产物回收量。如需进一步帮助，请随时联系公司的技术支持团队。

### 使用96孔板操作说明（回收~400ng PCR产物）

1. 确认PCR反应的体积，将25-50微升PCR样品转移至96孔板的孔中，将该板标记为样品板。

*注意：如果PCR反应样品体积少于25微升，请用同样的1x PCR反应缓冲液调整体积至25-50微升的范围。*

2. 向每个样品孔中添加 50微升结合液（NC Buffer），50微升100%的乙醇，和10微升 Auto-Mag® C-7磁珠悬液。

*建议：在同时进行多个样品操作时，可预先按每个样品需50微升结合液（NC Buffer）50微升100%的乙醇和10微升Auto-Mag® C-7磁珠悬液的比例将三者配成混合液。混匀，取110微升混合物加到每个样品中。*

3. 通过移液器上下20次混合样品，室温放置 8 分钟。

4. 将“样品板”放置于适当的磁分离装置上静置 2~5 分钟，或待溶液完全澄清。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：如果需要回收未结合的 PCR产物，请将上清液转移到新的 96 孔板中。将板标记为“DNA 回收板”。回收操作请参阅“未结合 DNA 回收”操作说明。*

5. 保持样品板在磁分离装置上，加入 200 微升新鲜配制的 80% 乙醇，不必悬浮磁珠，室温放置 30 秒，吸弃所有的液体。吸取液体时请勿触及磁珠。

6. 重复步骤 5，进行第二次和第三次 80% 乙醇冲洗。

7. 保持样品板在磁分离装置上，室温放置5分钟以晾干磁珠。

*注意：完全除去所有的液体非常重要。必要时用移液器除去残余液体。但要注意不要过度干燥磁珠。*

8. 取下磁分离装置上的样品板，向每个样品中加入 40μl 洗脱缓冲液，通过移液器上下吹打20次混悬磁珠。

*注意：可以采用96孔板封板膜封板，涡旋混匀 20 秒混悬磁珠。*

- 
9. 用封板膜封板封板，放在 55°C 孵育 5 分钟。
  10. 去除封板膜，再次通过移液器上下吹打20次混合样品。
  11. 将样品板放回磁分离装置上，静置 5 分钟或直到磁珠完全从溶液中分离出来。
  12. 将含有标准化好的PCR产物的洗脱液转移至新的适当的储存容器中，可放在-20°C 下保存，或直接用于后续应用。

*注意：转移洗脱液时，请勿带入任何 Auto-Mag® C-7 珠*

---

## 未结合 DNA 回收”操作说明

以下方案用于从 DNA 标准化操作保留的上清液中回收未结合的 gDNA 或 PCR 扩增产物

### 使用96孔板操作说明（回收未结合的DNA）

1. 在开始此程序之前，请先完成 gDNA 或 PCR 标准化方案的步骤 1-4。回收上清液。
2. 确认上清液的体积，并将上清液转移到新的 96 孔板中。标记为 DNA 回收板。
3. a) 对于回收 gDNA，将相同体积的 Auto-Mag® PCR-Pure 试剂添加到样品中。  
(例如：对于 100µl 上清液，添加 100µl Auto-Mag® PCR-Pure 试剂)。  
  
b) 对于回收 PCR 扩增产物，将 1.8 倍体积的 Auto-Mag® PCR-Pure 试剂添加到样品中。  
(例如：对于 100µl 上清液，添加 180µl Auto-Mag® PCR-Pure 试剂)。
4. 通过移液器上下 20 次将 Auto-Mag® PCR-Pure 试剂和样品充分混合。室温放置 5 分钟。
5. 将“回收板”放置于适当的磁分离装置上静置 2~5 分钟，或待溶液完全澄清。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。
6. 保持样品板在磁分离装置上，加入 300 微升新鲜配制的 80% 乙醇，不必悬浮磁珠，室温放置 30 秒，吸弃所有的液体。吸取液体时请勿触及磁珠。
7. 重复步骤 6 进行第二次和第三次 80% 乙醇冲洗步骤。
8. 保持样品板在磁分离装置上，室温放置 5 分钟以晾干磁珠。

*注意：完全除去所有的液体非常重要。必要时用移液器除去残余液体。但要注意不要过度干燥磁珠。*

9. 从磁分离装置中取下回收板。向每个样品中加入 25-100µl 洗脱缓冲液，上下移液 15 次混匀。
10. 室温放置 5 分钟。

*注意：将洗脱缓冲液预热至 65°C 可提高回收量。*

11. 将回收板放回磁分离装置上，静置 2 分钟或直到磁珠完全从溶液中分离出来。
12. 将含有回收的 gDNA 或 PCR 产物的洗脱液转移至新的适当的储存容器中，可放在 -20°C 下保存。

*注意：转移洗脱液时不要带入任何 Auto-Mag® PCR-Pure 试剂的磁珠。*

---

## 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
回收率低	样品DNA总量低	使用至少 1,500 ng gDNA 才能达到预期结果。 使用至少 25 $\mu$ L 或更多的原始 PCR 反应产物才能达到预期结果
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。