

ATPure Plus beads

(DNA 片段分选纯化磁珠)

AT4301-01/02/03 使用说明书

产品简介

该试剂盒采用磁珠纯化方式，适用于高通量测序文库(NGS)构建中 DNA 片段大小快速分选和回收。DNA 片段筛选试剂盒的结合缓冲液中含有超顺磁珠，根据磁珠悬浮液和样品的体积比可选择性结合 DNA 片段。经过磁性分离和乙醇清洗，低盐洗脱缓冲液或无核酸酶水洗脱的高纯度的 DNA 片段不含有核苷酸，引物，接头，酶和盐等污染物，可被直接用于下游应用，比如：酶切、测序、杂交、PCR 反应等后续操作。可应用于手动或自动液体操作设备。

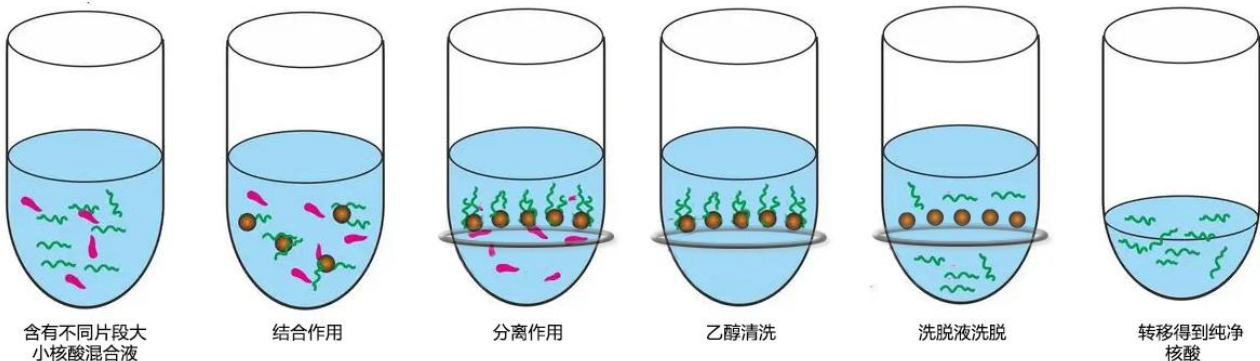
试剂盒组成

产品成分		AT4301-01 (5mL)	AT4301-02 (60mL)	AT4301-03 (450mL)	保存条件
Box1	ATPure Plus beads	1mL*5	30mL*2	450mL	4°C

产品优势

1. 适合 DNA 的片段范围广：100 bp~50 kb。
2. 回收率高：回收率高达 80%以上。
3. DNA 纯度高：回收的 PCR 产物纯度高。
4. 操作快速简单：20 min 即可完成整个操作流程，无需离心。
5. 可适用于自动化、高通量 PCR 产物纯化。
6. 该试剂盒使用步骤和国外 beckman Ampure XP 高度一致，直接替换。
7. 价格低，订货期短等明显优势。
8. 有磁珠操作均需置于室温。

产品原理



自备仪器和试剂

磁力架；80%乙醇水溶液；Buffer EB（10mM Tris-HCl, pH 8.0）；Nuclease-free H₂O

实验步骤

以目标平均片段大小 400bp 为例，分选磁珠比例为第一轮 0.6x 体积，第二轮 0.2x 体积。具体操作步骤如下：

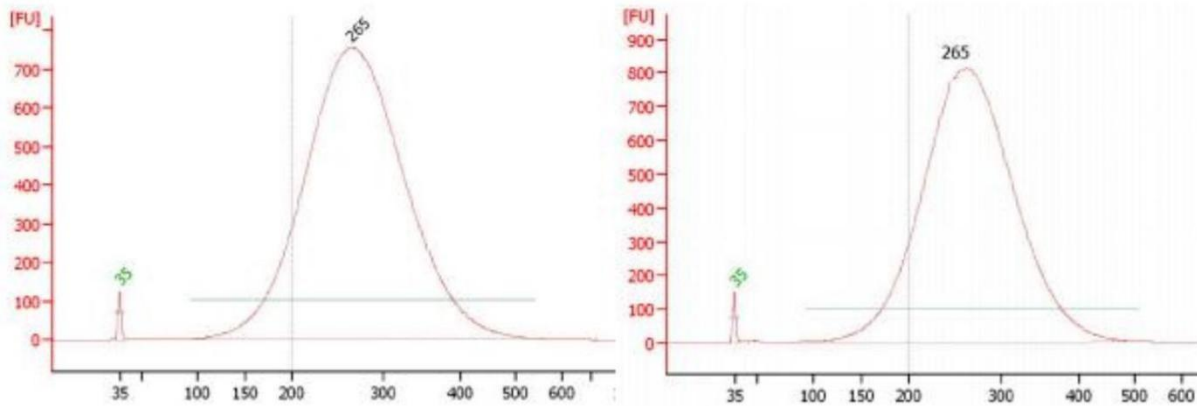
- 1) 使用 Nuclease-free H₂O 将 PCR 产物补足至 100uL；
- 2) 将室温放置 30min 后的 ATPure Plus beads 涡旋震荡混匀，吸取 60 uL 至上游产物中，移液器轻轻吹打 10 次充分混匀，将混合样本转移至一个 1.5mL 离心管，室温孵育 5min；
- 3) 将 1.5mL 离心管瞬时低速离心并置于磁力架上，室温放置 10min，待溶液澄清，转移上清至一个新的 1.5mL 离心管中，丢弃磁珠；
- 4) 向上清中加入 20uL 的 ATPure Plus beads，移液器轻轻吹打 10 次充分混匀，室温孵育 10min；
- 5) 将 1.5mL 离心管短暂离心并置于磁力架中分离磁珠和液体，室温放置 5min，待溶液澄清移除上清；
- 6) 保持 1.5mL 离心管始终处于磁力架中，加入 200uL 80% 乙醇（现用现配）漂洗磁珠，室温孵育 30s 后移除上清；
- 7) 重复步骤 6，总计漂洗两次；
- 8) 保持 1.5mL 离心管始终处于磁力架上，开盖空气干燥磁珠 5min；将 1.5mL 离心管从磁力架中取出，加入 16uL Nuclease-free H₂O 洗脱，涡旋振荡或使用移液器轻轻吹打充分混匀；
- 9) 将 1.5mL 离心管瞬时低速离心并置于磁力架中分离磁珠和液体，待溶液澄清，吸取 15uL 上清至干净的 200uL PCR 管中。

其他目标片段大小请参考说明书后筛选推荐比例表格或根据实验自行探索。

性能实例

1. 各核酸片段筛选测试：

- 1) 测试目的：通过 DNA 片段筛选测试自主研发试剂盒与国外进口试剂盒性能差异
- 2) 测试平台：安捷伦 2100 生物分析仪
- 3) 实验方法：将大片段 DNA 打断后添加磁珠纯化试剂盒进行片段筛选，运用两步法对样品进行核酸片段筛选回收



安捷伦 2100 生物分析仪片段选择对比测试结果：自主研发试剂盒与国际商品化品牌 Ampure XP 试剂盒核酸片段回收对比（左图为 Ampure XP 品牌核酸纯化试剂盒安捷伦 2100 生物分析仪检测回收核酸平均片段大小，平均片段大小为 265；右图为自主研发核酸纯化试剂盒利用安捷伦 2100 生物分析仪检测回收核酸平均片段大小，平均片段大小为 265；）对比结果十分接近。

2. DNA 回收效率测试

- 1) 测试目的：检测对 DNA 片段的回收效率
- 2) 实验方案：大片段 DNA 打断后，经试剂盒一步法纯化后（1.8X）测试 DNA 回收效率

测试品牌	DNA 总投入量	纯化后 DNA 回收效率 (%)
Ampure XP-1	5ug	84.20%
Ampure XP-2	5ug	83.87%
自主研发试剂盒-1	5ug	84.40%
自主研发试剂盒-2	5ug	84.12%

DNA 回收效率测试结果相近，都达到 80%以上。

3. 分选 DNA 片段推荐试用比例

文库平均长度(插入片段+接头+引物)	300bp	350bp	400bp	500bp	600bp	700bp
第一次分选磁珠体积	0.8 倍	0.7 倍	0.6 倍	0.55 倍	0.5 倍	0.45 倍
第二次分选磁珠体积	0.2 倍	0.2 倍	0.2 倍	0.15 倍	0.15 倍	0.15 倍