

货号: A63880

1/20



AMPure XP 核酸纯化试剂盒说明书

Agencourt AMPure XP

PCR 纯化

B37419AB
2016 年 8 月



贝克曼库尔特 (美国) 股份有限公司.
250 S. Kraemer Blvd.
Brea, CA 92821 U.S.A.



【产品名称】

通用名称： AMPure XP 核酸纯化试剂盒

英文名称： AMPure XP

【Agencourt AMPure XP 使用信息指南】

PCR 纯化

PN B37419AB (2016 年 8 月)

© 2016 贝克曼库尔特 (美国) 股份有限公司

保留所有权利

Beckman Coulter、标志以及文中提及的贝克曼库尔特产品和服务标记均是贝克曼库尔特 (美国) 股份有限公司在美国和其他国家/地区的商标或注册商标。

所有其他商标、服务标记、产品或服务均为其各自持有者的商标或注册商标。

【联系我们】

如有任何问题，请联系我们的客户支持中心。

- 在全球范围内，可登录我们的网站 www.beckmancoulter.com/customersupport/support 联系我们。
- 在美国和加拿大，可致电 1-800-369-0333。
- 在美国和加拿大以外，请联系当地的贝克曼库尔特生命科学代表。

原始说明

【修订历史】

版本 AA，2013 年 8 月

Agentcourt AMPure XP 使用信息版本 B37419AA

版本 AB，2016 年 8 月

对以下章节进行了更新：[PCR 纯化问答](#)。

注释：作为最新修订版一部分的变更内容见修订页边缘标线处。

【说明书版本说明】

原文说明书文档版本：B37419AB，原文说明书生效日期：2016 年 8 月 24 日；

中文说明书文档版本：B37419AB-CN，中文说明书生效时间：2024 年 4 月；

中文说明书 B37419AB-CN 内容直接翻译自原文说明书 B37419AB。

【安全通知】

仔细阅读所有说明书之前，请勿尝试执行任何程序。总是遵守产品标签和生产商的建议。若对在任何情况下如何继续进行有疑问，请联系您的贝克曼库尔特代表。

【警告、注意、重要提示和注释等警报】**【警告】**

警示词“警告”显示在橙色信号面板中，且相关文本（在本示例中为“警告”的定义）为粗体。

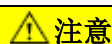


警告表示一种潜在危险情况，如未避免，可能导致死亡或重伤。

在本文件中，警示词“警告”仅用于表示人身伤害的可能性。其不用于表示错误数据的可能性。

【注意】

警示词“注意”显示在黄色信号面板中，且相关文本（在本示例中为“注意”的定义）为粗体，如下所示。



注意表示一种潜在危险情况，如未避免，可能导致轻微或中度伤害。也可用于提醒不安全操作。

在本文件中，警示词“注意”用于表示仪器损坏的可能性。

【重要提示】

警示词“重要提示”为粗体，如果换行，则相关文本（在本示例中为“重要提示”的定义）将缩进。

重要提示重要提示用于为正在执行的步骤或程序增加价值的评论。遵守重要提示中的建议，可增加设备性能或过程的受益。

警示词“重要提示”用于提醒注意对成功完成程序和/或仪器操作至关重要的信息。

【注释】

警示词“注释”为粗体，如果换行，则相关文本（在本示例中为“注释”的定义）将缩进。

注释“注释”用于提醒工作人员注意该设备的安装、使用和维修过程中应遵循的重要信息。

【目录】

修订历史	iii
安全通知	v
警告、注意、重要提示和注释等警报	v
警告	v
注意	v
重要提示	v
注释	vi
用户指南概述	xi
关于本手册	xi
预期用途	xi
质保免责声明	xii
使用的约定	xii
技术支持	xii
Agencourt AMPure XP PCR 纯化	1
简介	1
提供的材料	2
规格	2
用户提供的材料	3
耗材和硬件	3
反应板	3
Agencourt SPRIPlate 磁力板	3
封板膜，粘性或热封	3
液体处理机械臂或多通道手动移液器	3
试剂	3
新鲜 70% 乙醇	3
试剂级水	3
PCR 纯化过程概述	4
回收率计算	4
PCR 纯化实验流程	5
96 孔板形式实验流程	5
384 孔板形式实验流程	7
故障排除	9
PCR 纯化问题及解决方案	9
常见问题	11
PCR 纯化问答	11
缩略语	
词汇表	
快速参考	1
96 孔板形式快速参考	1

【插图】

- 1 PCR 纯化的工作流程, 4
- 2 磁珠结合容量, 11
- 3 核酸的结合, 12
- 4 回收中洗脱体积减少, 13
- 5 按输入体积的回收率, 13
- 6 按输入浓度的回收率, 14

【表格】

- 1 可用 Agencourt AMPure XP, 2
- 2 96 孔板纯化的 PCR 反应数, 2
- 3 384 孔板纯化的 PCR 反应数, 2
- 4 AMPure XP 添加至样本反应体积图, 5
- 5 AMPure XP 添加至样本反应体积图, 7

【用户指南概述】**【关于本手册】**

本手册中的信息组织如下：

Agencourt AMPure XP PCR 纯化

概述了 Agencourt AMPure XP PCR 纯化过程、所需耗材和试剂等材料，以及 96 孔板形式或 384 孔板形式的实验流程。

故障排除

PCR 纯化问题（如低产量、低回收率和不完全纯化）的解决方案。

常见问题

关于 Agencourt AMPure XP PCR 纯化过程的常见问题解答。

缩略语

定义本手册中使用的大多数缩略语。

词汇表

为本手册中使用的术语提供定义。

快速参考

使用 [96 孔板形式实验流程](#) 进行 PCR 纯化的快速参考。

【预期用途】

Agencourt AMPure XP 预期用于分子生物学研究应用。其预期不用于或不确认疾病或其他病症的诊断。

【质保免责声明】

Beckman Coulter 对该方法不作任何形式的明示或暗示保证，包括但不限于对特定用途适用性或适销性的保证，或该方法不侵权的保证。谨此明确声明不存在任何其他质保。您对该方法的使用完全由您自己承担风险且无权向 Beckman Coulter 追索。

【使用的约定】

本手册采用以下约定：

- 指向互联网或文档另一部分信息的链接为蓝色。要访问链接的信息，请选择蓝色文本。

【技术支持】

有关此方案的问题，请致电 1-800-369-0333 联系 Beckman Coulter 的技术支持，或通过电子邮件：reagentsupport@beckman.com 联系技术支持

* PCR 过程涵盖于 Roche Molecular Systems, Inc.和 F. Hoffman-La Roche, Ltd.拥有的专利中。

【Agencourt AMPure XP PCR 纯化】

【简介】

有关更新的方案，请参阅 <http://www.beckmancoulter.com>，当处理或运输试剂时，请参阅 MSDS 说明 <https://www.beckmancoulter.com/wsrportal/page/msdsDownloadTab>。

Agencourt AMPure XP PCR*纯化系统利用 Beckman Coulter 的固相可逆固定化（SPRI）顺磁性微珠技术对 PCR 扩增子进行高通量纯化。Agencourt AMPure XP 利用优化缓冲液将 100 bp 及以上 DNA 片段选择性结合到顺磁性微珠上。可使用简单清洗流程去除过量引物、核苷酸、盐和酶。结果可获得更纯化 PCR 产物。

Agencourt AMPure XP 纯化产物可用于以下应用：

- PCR
- 测序
- 基因分型
- 片段分析
- 引物步移
- 克隆

注 AMPure XP 被支持用于 Affymetrix SNP 6.0。有关此应用的查询，请致电 1-888-362-2447 或您当地的 Affymetrix 支持机构。

AMPure XP 用于多个下一代测序应用，并得到开发这些方案的机构的支持。

本方案预期用于以下产品

- A63880 AMPure XP 5 mL
- A63881 AMPure XP 60 mL
- A63882 AMPure XP 450 mL

由于 AMPure XP 纯化流程利用磁分离且无需离心或真空过滤，因此其高度适用于 Beckman Coulter Biomek 自动化平台。有关自动化 Agencourt AMPure XP 的更多信息，请访问 Beckman Coulter 网站：<http://www.beckmancoulter.com/>。进入网站后，搜索（使用放大镜图标）AMPure XP。

【提供的材料】

- Agencourt AMPure XP
 - 到货后储存在 4°C 下，最长可储存 18 个月
 - 使用前充分摇晃试剂。试剂颜色应均匀一致

* PCR 过程涵盖于 Roche Molecular Systems, Inc.和 F. Hoffman-La Roche, Ltd.拥有的专利中。

【规格】

Agencourt AMPure XP 可用于 96 和 384 孔板形式的 PCR 纯化。下表说明了 Agencourt AMPure XP 将根据用户要求形式纯化的 PCR 反应数。

表 1 可用 Agencourt AMPure XP

AMPure XP	产品编号
AMPure XP 5.0 mL	A63880
AMPure XP 60 mL	A63881
AMPure XP 450 mL	A63882

表 2 96 孔板纯化的 PCR 反应数

PCR 反应体积 96 孔板形式 (μL)	产品编号 A63880	产品编号 A63881	产品编号 A63882
10	278 rxns	3332 rxns	25000 rxns
20	139 rxns	1666 rxns	12500 rxns
50	56 rxns	667 rxns	5000 rxns
100	28 rxns	334 rxns	2500 rxns

表 3 384 孔板纯化的 PCR 反应数

PCR 反应体积 384 孔板形式 (μL)	产品编号 A63880	产品编号 A63881	产品编号 A63882
5	556 rxns	6667 rxns	50000 rxns
7	397 rxns	4762 rxns	35714 rxns
10	278 rxns	3333 rxns	20000 rxns
14	198 rxns	2381 rxns	17857 rxns

【用户提供的材料】

【耗材和硬件：】

【反应板】

对于 96 孔板形式-96 孔 PCR 板（例如：ABgene 产品编号 AB-0800；AB-2800 或 AB-1400 <http://www.fishersci.com>），或 300 μL 圆底微量滴定板（Costar 编号 07-200-105；<http://www.fishersci.com>），或 1.2 mL 深孔微量滴定板（产品编号 AB-1127 <http://www.fishersci.com>）

对于 384 孔板形式-384 孔（40 μL 孔容量）PCR 板（例如：硬壳 Bio-Rad PCR 板编号 HSP-3801 或 ABgene 产品编号 AB-1111 <http://www.fishersci.com>）

【Agencourt SPRIPlate 磁力板】

对于 96 孔板形式-Agencourt SPRIPlate 96 环形超级磁力板（Beckman-Colter 产品编号 A32782；<https://www.beckmancoulter.com>）

对于 384 孔板形式-Agencourt SPRIPlate 384（Beckman-Colter 产品编号 A29165；<https://www.beckmancoulter.com>）

【封板膜，粘性或热封】

- 例如：产品编号 AB-3739；<http://www.fishersci.com>

【液体处理机械臂或多通道手动移液器】

- 推荐

【试剂：】

【新鲜 70%乙醇】

应准备新鲜的 70%乙醇以获得最佳结果。

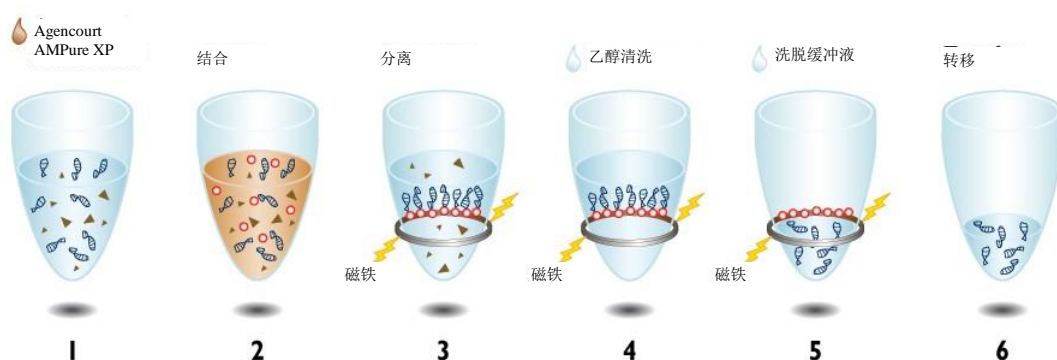
注 70%乙醇具有吸湿性。即当开封后，随着时间推移，乙醇将同时蒸发和吸收水分。重复使用最终将变为较低浓度。乙醇和水也存在混溶性。例如，量出 70 mL 乙醇，并用水加满至 100 mL，将生成约 65%乙醇。分别量出 70 mL 乙醇和 30 mL 水，然后将其混合将生成约 95 mL 70%乙醇。

【试剂级水】

用于 DNA 洗脱的水、TRIS 醋酸盐（10 mM pH 8.0）或 TE 缓冲液（10 mM TRIS 醋酸盐 pH 8.0，1 mM EDTA）。

【PCR 纯化过程概述】

图 1 PCR 纯化的工作流程



PCR 纯化过程的工作流程如下：

1. 每 1.0 μL 样本加入 1.8 μL AMPure XP。
2. 将 DNA 片段与顺磁性微珠结合。
3. 将磁珠+DNA 片段与污染物分离。
4. 用 70% 乙醇清洗磁珠+DNA 片段两次，以去除污染物。
5. 从磁珠上洗脱纯化 DNA 片段。
6. 转移至新板。

使用 96 孔板形式进行 PCR 纯化的详细流程见本手册的“PCR 纯化实验流程”中的“96 孔板形式实验流程”章节。

使用 384 孔板形式进行 PCR 纯化的详细流程见本手册的“PCR 纯化实验流程”中“384 孔板形式实验流程”章节。

【回收率计算】

为衡量回收率，需要对样本进行纯化前和纯化后的分析。对于该过程，建议使用 PicoGreen 测定法或在琼脂糖凝胶上进行可视化。由于在 260 nm 处单链和双链核酸均会影响总吸光度读数，因此不建议使用 260 nm 处的光密度 (OD) 进行分光光度分析。

对于纯化前的样本，单链 PCR 引物和 dNTP 将有助于提高初始吸光度，并错误地增加初始 PCR 产物量。相比之下，PicoGreen 测定法使用插入染料仅对双链 DNA 进行特异性定量。当对纯化前的样本进行 PicoGreen 读数时，PCR 引物和 dNTP 将不会错误增加读数。这能够更准确量化回收率。

除 PicoGreen 读数外，建议使用溴化乙锭在琼脂糖凝胶上对样本纯化前和纯化后进行可视化，但这更具主观性。为获得最准确结果，在同一凝胶上运行纯化前和纯化后样本，以最大限度地减少电泳参数和成像过程的差异。

【PCR 纯化实验流程】

有关 Agentcourt AMPure XP 过程自动化的信息，请访问：<http://www.beckmancoulter.com>

【96 孔板形式实验流程】

1. 确定是否需要板转移。

如果 PCR 反应体积乘以 2.8 超过 PCR 板的体积，则需转移至 300 μL 圆底板或 1.2 mL 深孔板中。

2. 摇晃 Agentcourt AMPure XP 瓶，使可能沉降的磁性颗粒重悬。然后根据表 4 中所示的样本反应体积加入 Agentcourt AMPure XP。

表 4 AMPure XP 添加至样本反应体积图

样本反应体积 (μL)	AMPure XP 体积 (μL)
10	18
20	36
50	90
100	180

对于给定反应，Agencour-AMPure XP 的体积可以由以下方程式推导：

$$(每次反应的 Agencour-AMPure XP 的体积) = 1.8 \times (反应体积)$$

3. 该步骤将 100 bp 及以上 DNA 片段结合到磁性磁珠上。由于移液混合往往更具再现性，因此其比涡旋更可取。混合后，混合液的颜色应均匀：

-用移液器混合 10 次，将试剂和样本充分混合。让混合样本在室温下孵育 5 分钟，以获得最大回收率。

4. 将反应板放置在 Agencourt SPRIPlate 96 超级磁力板上 2 分钟，以将磁珠从溶液中分离出来。

重要提示 等待溶液澄清后再继续下一步。

5. 此步骤必须在反应板位于 Agencourt SPRIPlate 96 超级磁力板上时执行：

-从反应板中吸出澄清溶液并丢弃。留下 5 μL 上清液，否则磁珠会随上清液取出。

重要提示 不得干扰分离的磁性磁珠环。

重要提示 使用位于 Agencourt SPRIPlate 96 超级磁力板上的反应板执行下一步骤。不得干扰分离的磁性磁珠。此外，确保清除孔底的所有乙醇。

6. 将 200 μL 70% 乙醇加注至反应板的每个孔中，并在室温下孵育 30 秒。吸出乙醇并丢弃。
注 如果样本加试剂的总体积超过 200 μL ，则使用至少为样本加试剂体积的清洗体积。清洗共重复两次。
 在酒精中不易取出磁珠，因此没有必要留下任何上清液。
注 干燥时间为可选，以确保去除所有乙醇痕迹。对于 10 kb 及以上片段，不得过度干燥磁珠环（如果过度干燥，磁珠环会出现裂纹），这将显著降低洗脱效率。
7. 从磁力板上取下反应板，然后向反应板的每个孔中加入 40 μL 洗脱缓冲液，并用移液器混合 10 次。孵育 2 分钟。
 40 μL 洗脱体积 将确保液位高到足以接触到磁珠。可使用更大体积的洗脱缓冲液，但使用小于 40 μL 缓冲液将需要额外混合操作（以确保液体与磁珠接触），并且可能不足以洗脱整个 PCR 产物。
8. 将反应板放置在 Agencourt SPRIPlate 96 超级磁力板上 1 分钟，以将磁珠从溶液中分离出来。
9. 将洗脱液转移至新板上。
注 通常无需担心磁珠携带污染进入最终板中。样本可以与磁珠一同储存在冰箱中，且磁珠在下游酶促反应中为惰性。如果出于任何原因必须限制磁珠携带污染，则可将 2 μL -5 μL 的洗脱液留在原始板中。此外，从磁珠的第二次转移为可选。为此，将含有磁珠和洗脱液的最终板放置在磁铁上 1 分钟，以分离磁珠。将洗脱液转移至另一个干净板上。

【384 孔板形式实验流程】

1. 摇晃 Agencourt AMPure XP 瓶，使可能沉降的磁性颗粒重悬。然后根据表 5 中所示的样本反应体积加入 Agencourt AMPure XP。
注 由于样本加试剂的总体积，不可能在 384 孔 PCR 板的孔内纯化大于 14 μL 的反应，如下方程式所示：

$$(14 \mu\text{L 反应} + 25 \mu\text{L Agencourt AMPure XP} = 39 \mu\text{L})$$

表 5 AMPure XP 添加至样本反应体积图

样本反应体积 (μL)	AMPure XP 体积 (μL)
5	9
7	12.6
10	18
14	25

对于给定反应，Agencour-AMPure XP 的体积可以由以下方程式推导：

$$(\text{每次反应的 Agencour-AMPure XP 的体积}) = 1.8 \times (\text{反应体积})$$

2. 该步骤将 100 bp 及以上 DNA 片段结合到磁性磁珠上。由于移液混合往往更具再现性，因此其比涡旋更可取。混合后，混合液的颜色应均匀：
 -用移液器混合 10 次，将试剂和 PCR 反应充分混合。让混合样本在室温下孵育 5 分钟，以获得最大回收率。
3. 将反应板放置在 Agencourt SPRIPlate 384 上 2 分钟，以将磁珠从溶液中分离出来。

重要提示 等待溶液澄清后再继续下一步。

4. 此步骤必须在纯化板位于 Agencourt SPRIPlate 384 上时执行：

-从反应板中吸出澄清上清液并丢弃。留下少量 μL 上清液，否则磁珠会随上清液取出。

重要提示 不得触摸磁性磁珠，磁珠在孔侧形成一个斑点。

重要提示 使用位于 Agencourt SPRIPlate 384 后磁力板上的反应板执行下一步骤。不得干扰分离的磁性磁珠。此外，一定要去除孔底的所有乙醇

5. 将 30 μL 70%乙醇清洗液加注至反应板的每个孔中，并在室温下孵育 30 秒。吸出乙醇并丢弃。清洗共重复两次。

在酒精中不易取出磁珠，因此没有必要留下任何上清液。

注 干燥时间为可选，以确保去除所有乙醇痕迹。对于 10 kb 及以上片段，不得过度干燥磁珠颗粒（如果过度干燥，磁珠颗粒会出现破裂），这将显著降低洗脱效率。

6. 从磁力板上取下反应板，然后向每个孔中加入 30 μL 洗脱缓冲液，并用移液器混合 10 次。孵育 2 分钟。

30 μL 的洗脱体积将确保液位高到足以接触磁珠。可使用更大体积的洗脱缓冲液，但使用小于 15 μL 的缓冲液需要额外混合（以确保液体与磁珠接触），并且可能无法完全洗脱整个产物。

7. 将反应板放置在 Agencourt SPRIPlate 384 上 1 分钟，以将磁珠从溶液中分离出来。

8. 将洗脱液转移至新板上。

注 通常无需担心磁珠携带污染进入最终板中。样本可以与磁珠一同储存在冰箱中，且磁珠在下游酶促反应中为惰性。如果出于任何原因必须限制磁珠携带污染，则可将 2 μL -5 μL 的洗脱液留在原始板中。此外，从磁珠的第二次转移为可选。为此，将含有磁珠和洗脱液的最终板放置在磁铁上 1 分钟，以分离磁珠。将洗脱液转移至另一个干净板上。

【故障排除】

【PCR 纯化问题及解决方案】

PCR 纯化问题（如低产量、低回收率和不完全纯化）的解决方案如下图所示。

低产量/回收率问题	可能的解决方案
通过分光光度法吸光度测量回收率	样本纯化前的未结合引物和核苷酸将有助于提高吸光度，因此未纯化的 PCR 反应浓度将看似高于实际浓度。这导致回收率看似低于实际值。在琼脂糖凝胶上同时分离未纯化的 PCR 产物与纯化的 PCR 反应产物（例如 1/4 的未纯化的 PCR 产物和 3/4 的洗脱产物），以双重检查回收率测量值，或使用 PicoGreen 测定法定量。
磁珠损失	如果在上清液去除过程中磁珠被吸入吸头，则与这些磁珠结合的核酸将会丢失。缓慢吸液并在不干扰磁珠环/颗粒的情况下尽可能多地去除第一次上清液。如果意外吸出磁珠，将所有液体重新加注至孔中，使得磁珠重新沉降，随后再次吸液。尝试更慢地吸液或使用更细的移液器。因为将磁珠保持在原位的样本较少，低浓度样本将更容易受到磁珠损失的影响。因为磁珠可能达不到孔中磁体水平，低体积样本将更容易受到磁珠损失的影响。
片段大小不兼容	AMPure XP 用于 PCR 产物的 PCR 纯化。对片段大小选择应用，请考虑使用 SPRIselect。有关 SPRIselect 的更多信息，请访问： www.spriselect.com/
混合不充分	在初始结合混合和洗脱混合期间充分混合至关重要。使用略低于总孔体积的吸头体积混合。洗脱时，需要以至少为最小洗脱体积洗脱（96 孔板形式为 40 μL ，384 孔板形式为 15 μL ），以确保磁珠得到充分再悬浮。还应保持孵育时

	间，以确保核酸有足够时间与磁珠结合或分离。由于样本粘度，结合过程中涡旋可能效率低下。
大反应体积	大体积反应可以受益于延长的结合和分离时间。将结合时间增加至 10 分钟，并确保在去除上清液之前分离所有磁珠。

低产量/回收率问题	可能的解决方案
乙醇	乙醇含量必须至少为 70%。将 100% 乙醇稀释至 70% 时，由于乙醇的混溶性，确保在混合前分别测量水和乙醇。用水加满乙醇进行稀释会导致浓度低于预期。随着时间推移，原液乙醇也可从大气中吸收水，从而导致较低浓度。在不使用时确保原液乙醇保持紧密封盖。
低洗脱体积	小洗脱体积会导致回收率下降。这是因为少量洗脱缓冲液总会滞留在磁珠表面。该体积取决于孔形状和孔中磁珠数，因此较小洗脱体积将导致更高百分比洗脱液滞留。
大片段完全干燥在磁珠上	如果样本干燥后，超过数 kb 的片段可以与磁珠非常紧密结合，并且其可能难以洗脱。尽可能完全去除最后一次乙醇清洗，但立即加入洗脱缓冲液并混合样本。由于在洗脱孵育过程中处于开放状态，乙醇将继续从孔中蒸发。

不完全纯化问题	可能的解决方案
引物携带污染	AMPure XP 试剂中所含结合缓冲液的最终浓度决定与磁珠结合的片段大小。AMPure XP 用于捕获 >100 bp 的 PCR 产物并消除 <50 个碱基的引物。较大引物和引物二聚体可与磁珠结合。确保添加正确体积的试剂，并且在循环过程中 PCR 产物尚未蒸发到较小体积。确保在混合和结合过程中，样本接触塑料的地方均使用乙醇冲洗孔。如果在纯化期间存在过量引物，则应减少用于 PCR 反应的引物的量。
下游酶反应性能欠佳	如果下游酶促反应对微量乙醇极为灵敏，则添加两分钟的保守干燥步骤。注释大片段可以与磁珠紧密结合，并且在完全干燥至磁珠上后可能难以洗脱。

【常见问题】

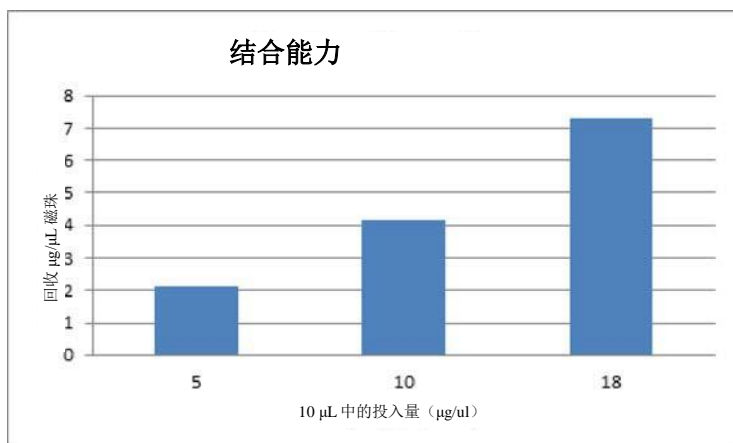
【PCR 纯化问答】

以下是关于 Agencourt AMPure XP PCR 纯化过程的常见问题解答。

1. 磁珠的结合容量是多少？

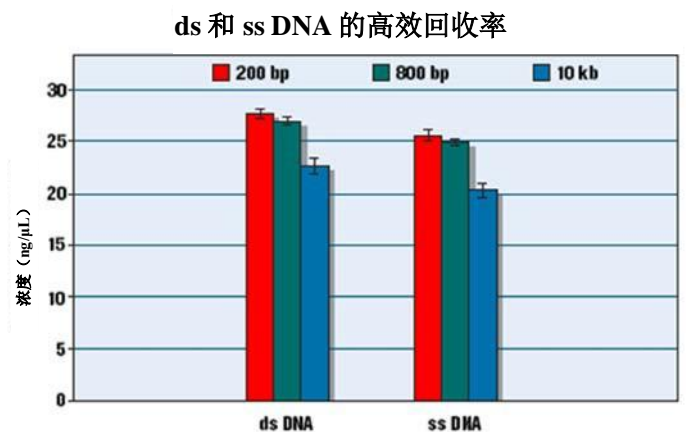
磁珠的结合容量非常高，以至于任何类型样本均无法超过。可以将至少 7 μg 核酸与 1 μL AMPure XP 试剂结合，但样本会变得非常粘稠而难以进行移液。请参阅图 2。

图 2 磁珠结合容量



2. *AMPure XP 已在室温下一段时间了, 我还可以使用吗?*
AMPure XP 是根据瓶子上标示的储存温度进行制造并测试的, 我们仅保证该温度下的性能。
3. *AMPure XP 意外冻结, 我还可以使用吗?*
AMPure XP 是根据瓶子上标示的储存温度进行制造并测试的, 我们仅保证该温度下的性能。
4. *我可以用 AMPure XP PN A63880、A63881 或 A63882 替换 SPRIWorks HT 试剂盒 PN B05451 中的 AMPure XP 吗?*
不推荐该替换。SPRIworks HT 试剂盒中的 AMPure XP 为针对下一代测序应用进行测试, 而其他批次 AMPure XP 则不是。
5. *AMPure XP 可以结合双链核酸和单链核酸吗?*
可以, AMPure XP 将结合单链和双链核酸。请参阅图 3。

图 3 核酸的结合



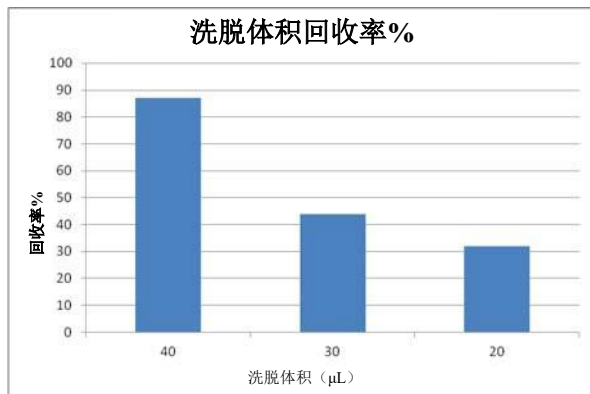
通过分光光度法测量 PCR 纯化后 PCR 产物的回收率。200 bp 使用 Agencourt AMPure XP 试剂盒纯化的 800 bp 和 10 kb 双链和单链 PCR 产物。

6. *我可以用 AMPure XP 纯化 gDNA 吗?*
可以, 由于大片段与磁珠紧密结合, 很难洗脱, 因此遵循正常方案并确保磁珠不完全干燥。
7. *我可以用小于 40 µL 的 96 孔板形式洗脱样本吗?*
可以, 但回收率将随着洗脱体积的减少而降低。此外, 如果磁珠在分离过程中无法到达磁铁, 为避免磁珠携带污染, 则可能需要留下一部分洗脱液。确保将磁珠完全重悬在洗脱缓冲液中。回收率随洗脱体积的减少而降低的示例如图 4 所示。

注 如果需要 40 µL 以下的洗脱体积, 则可能需要尝试低洗脱磁力板 (LE 磁力板, 部件编号 A000350)。在最后洗脱步骤中, 用 LE 磁力板代替超级磁力板 (A001322)。将需要增

加分离时间。有关 LE 磁力板的更多信息, 请访问制造商的网站:
<http://www.alpaqua.com>

图 4 不同洗脱体积的回收率



8. AMPure XP 方案能在离心管中完成吗?

是, 仅需遵循正常方案。对于 1.5 mL 和 2.0 mL 离心管, 建议使用 Agentcourt SPRIS 和 Magnet PN A29182。对于 0.2 mL 离心管和联排管, 可使用超级磁力板 PN A32782。注意有些离心管的涂层使磁珠从管侧滑落, 使得上清液的去步骤更具挑战性。

9. 我可以在洗脱前干燥样本以消除微量乙醇吗?

去除最后一次乙醇清洗后和添加洗脱缓冲液前, 可以加入干燥步骤。对于非常大片段 (如 gDNA) 的纯化, 因为回收率会降低, 不建议采用干燥步骤。已知高达 40 kb 的片段能够耐受干燥步骤。

10. 可以与 AMPure XP 结合的片段是否有大小上限?

否, AMPure XP 将结合 100 bp 及以上片段, 并消除 50 个碱基及以下引物。50 和 100 个碱基之间将有一些回收。

11. AMPure XP 的回收率是多少?

回收率取决于片段大小、样本体积、样本浓度、洗脱体积和一些其他因素。理想条件下, 回收率可达 90%, 但在次优条件下, 可低至 60%。请参阅图 5 和图 6。

图 5 不同投入体积的回收率

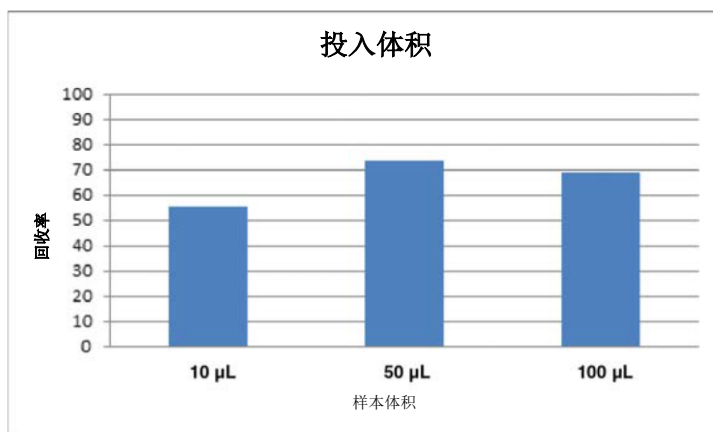
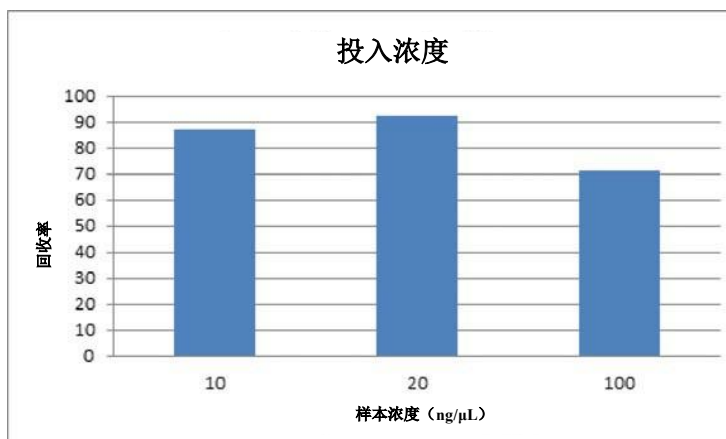


图 6 不同投入浓度的回收率



【缩略语】

- μg — 微克
- μL — 微升
- bp — 碱基对
- DNA — 脱氧核糖核酸
- gDNA - 基因组脱氧核糖核酸
- m — 米
- mL — 毫升
- mM — 毫摩尔
- ng/μL — 纳克/微升
- PCR — 聚合酶链式反应
- qPCR — 定量（实时）PCR
- SN — 上清液
- SNP — 单核苷酸多态性
- SPRI — 固相可逆化固定
- TE — Tris 乙二胺四乙酸
(10 mM Tris, pH 8, 1 mM EDTA)
- Tris — 三（羟甲基）氨基甲烷（10mM, pH 8）
- Vol — 体积

【词汇表】

- 等分试样 — 精确数量的加注量。
- 测定 — 重复试验的程序，以确定给定批次和控制水平的赋值。
- 磁珠 — 在 SPRI 技术中，磁性且均匀的微粒。
- 死体积 — 在自动化系统中，移液器吸头无法拾取的样本或试剂的量或体积。
- 洗脱缓冲液 — 从磁性颗粒中洗脱 DNA 的缓冲液。
- 乙醇清洗 — 用 70% 乙醇清洗磁性磁珠以去除污染物。
- 移液 — 使用实验室设备进行体积测量，并将液体从一个容器转移至另一个容器。

方案 — 实验设计和实施中的一种书面程序方法。

储液器 — 用于一种方法的单孔实验室容器。

上清液 — 结晶、沉降、离心或其他过程后，位于固体残留物上方的液体。

【索引 A】

A

缩略语, xi, 1

提供的 Agencourt AMPure XP 材料, 2

规格, 2

定义的等分试样, 1

AMPure XP 应用, 1

定义的测定, 1

B

定义的磁珠, 1

C

耗材和硬件, 3

粘性, 3

热封, 3

液体处理机械臂, 3

磁力板, 3

移液器, 3

封板膜, 3

反应板, 3

使用的约定, xii

D

定义的死体积, 1

DNA 片段大小 100 bp, 1

E

定义的洗脱缓冲液, 1

定义的乙醇清洗, 1

R

试剂, 3

乙醇, 3

水, 3

定义的储液器, 1

修订历史, iii

S

F

常见问题, xi, 11

G

词汇表, xi, 1

I

预期用途, xi

L

低洗脱磁力板, 12

M

磁力板低洗脱, 12

超级, 12

P

PCR, 1-xi

PCR 纯化解答, 11

概述, 4

问题, 11

工作流程, 4

PCR 纯化实验流程 384 孔板形式, 7

96 孔形式, 5

PCR 纯化过程, xi

回收率计算, 4

定义的移液, 1

定义的方案, 1

Q

快速参考, xi

对于 96 孔板形式, 快速参考-1

安全注释注意, v

重要提示, v

注释, vi

警告, v

SPRI, 1

超级磁力板, 12

定义的上清液, 1

T

TE 缓冲液, 3

技术支持, xii

TRIS 醋酸酯, 3

故障排除, xi, 9

W

质保免责声明, xii

【快速参考】

【96 孔形式快速参考】

以下是使用 96 孔板形式进行 PCR 纯化的实验流程的快速参考。

对于 96 孔板形式:

- 1 样本体积 $\times 2.8 >$ 孔体积?
 - 是, 请进入第 2 步。
 - 否, 进入第 3 步。
- 2 将样本转移至 300 μL 圆底板或 1.2 mL 深孔板中。
- 3 摇晃 Agencourt AMPure XP 瓶, 使磁性颗粒完全重悬。
- 4 添加样本体积 $\mu\text{L} \times 1.8$ 的 AgencourAMPure XP。使用移液器混合 10 次。
- 5 室温下孵育 5 分钟。
- 6 将反应板放置在 Agencourt SPRIPlate 超级磁力板上 2 分钟, 以将磁珠从溶液中分离出来。
- 7 从反应板中吸出上清液并丢弃。
- 8 加注 200 μL (或反应板总体积) 70% 乙醇, 并在室温下孵育至少 30 秒。吸出乙醇并丢弃。清洗共重复两次。

9 加入 ≥ 40 μL 的洗脱缓冲液，移液混合 20 次。

10 室温下孵育 2 分钟。

11 将反应板放置在 Agencourt SPRIPlate 超级磁力板上 1 分钟，以将磁珠从溶液中分离出来。

12 将纯化产物转移至新板中。

www.beckmancoulter.com

