

货号：B23317

1/21



用户指南

SPRIselect 核酸片段筛选试剂盒说明书

SPRIselect 用户指南

基于 SPRI 的片段筛选

B24965AA
2012 年 10 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：SPRIselect 核酸片段筛选试剂盒

英文名称：Reagent, SPRIselect

SPRIselect 用户指南

PN B24965AA (2012 年 10 月)

© 2012 贝克曼库尔特（美国）股份有限公司

保留所有权利

Beckman Coulter 独特标志、SPRI 和 SPRIselect 为贝克曼库尔特（美国）股份有限公司的商标，已在 USPTO 注册。

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。

可通过以下网址联系我们：

www.beckmancoulter.com

美国制造

首次发布，2012年10月
SPRIselect 用户指南，版本 B24965AA

说明书版本说明

原文说明书文档版本： B24965AA，原文说明书生效日期： 2012年10月；
中文说明书文档版本： B24965AA -CN，中文说明书生效时间： 2024年4月；
中文说明书 B24965AA -CN 内容直接翻译自原文说明书 B24965AA。

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。



用户指南	1
修订历史	3
警告、注意、重要提示和注释等警报	4
警告	4
注意	4
重要提示	4
注释	4
简介	6
SPRIselect 用户指南介绍	6
关于本手册	6
预期用途	6
免责声明	6
使用的约定	6
基于 SPRI 的片段筛选	7
简介	7
材料	7
样品先决条件	8
左侧筛选（去除小片段）	9
右侧筛选（去除大片段）	11
双侧筛选注意事项	13
常见实验室试剂对片段筛选的影响	15
索引	20

【SPRIselect 用户指南介绍】

【关于本手册】

本手册内容安排如下：

基于 SPRI 的片段筛选

提供 SPRIselect 及其用途和关键功能的概述。

词汇表

为本手册中使用的术语提供定义。

【预期用途】

SPRIselect 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。

【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：

- 文本中仪器手册的名称以*斜体字*显示。
- 仪器屏幕上显示的消息以*斜体字*显示。
- 仪器屏幕上显示的按钮以**粗体字**显示。
- 仪器屏幕上显示的选择以**粗体字**显示。
- 至特定功能或界面的软件路径在后续界面选项之间使用大于 (>) 符号，如下所示：**选项 > 日志配置**。

基于 SPRI 的大小选择

【简介】

SPRIselect 是一种基于 SPRI 的化学试剂，可以加速和简化下一代测序技术中文库制备的核酸片段筛选过程。。在该过程中，片段筛选以后会产生均匀的片段分布（约为平均大小）。使用 SPRIselect 可以调整核酸片段大小分布，以适应所使用的应用和平台。该过程可以针对低通量到高通量工作流程进行调整。

下文提供的指导可用于优化预期的片段筛选范围。SPRIselect 在液体处理系统（例如 Biomek Laboratory Automation Workstation）上手动或自动使用，提供适用于大多数应用的快速的、结果稳定的片段筛选结果。

SPRIselect 受美国专利 5705628、6534262 和 5898071 保护。

【材料】

- 85%乙醇，非变性（乙醇具有吸湿性，为获得最佳结果，应新鲜制备）
- 用于 DNA 洗脱的水（分子生物学级）或标准缓冲溶液，例如 Tris（10 mM，pH 8）或 TE（10 mM Tris，pH 8，1 mM EDTA）

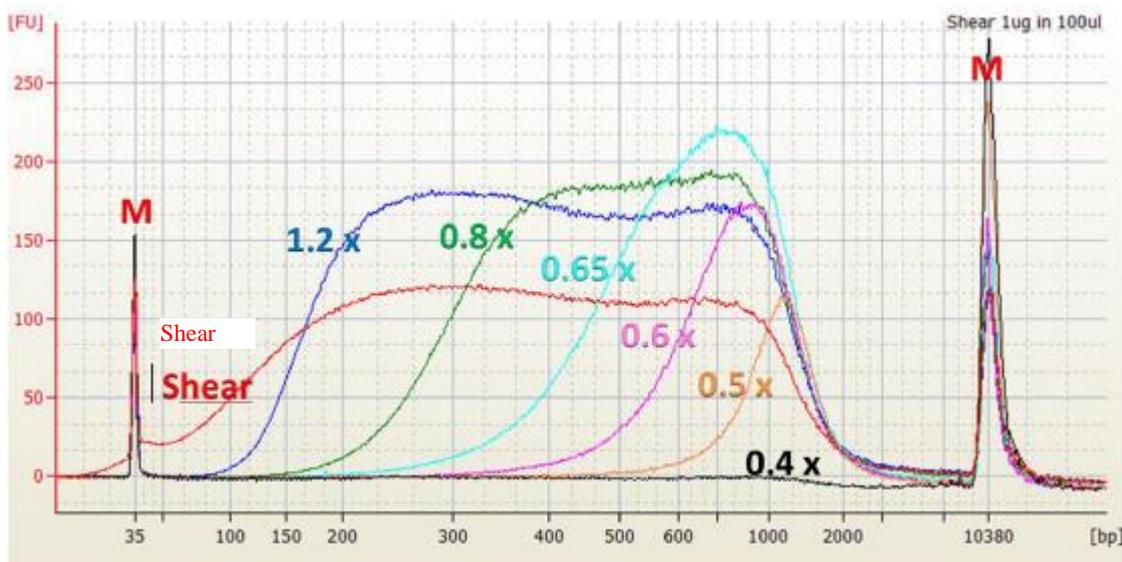
【样品必要条件】

- 样品应为双链 DNA 片段。
- 样品应溶解在分子生物学级水或标准缓冲溶液（如 Tris 或 TE）中。更多信息参见用户指南结尾处的 [常见实验室试剂对大小选择的影响](#)。
- 样品体积应 ≥ 50 μL 。体积小会降低 **SPRIselect** 的移液准确度，从而增大选择点变异性。
- 可在 ≥ 150 bp 且 ≤ 800 bp 的范围内进行 DNA 片段大小选择。
- 为了最大限度地提高左侧筛选（去除小片段）的回收率，大部分样品的片段分布应大于选择点。
- 为了最大限度地提高右侧筛选（去除大片段）回收率，大部分样品的片段分布应小于选择点。
- 为了最大限度地提高两侧筛选的回收率，大部分样品的片段分布应在选择点中间。

【左侧筛选（去除小片段）】

一般而言，增大 **SPRIselect** 体积与样品体积比会提高结合较小片段的效率。图 1 所示为这种关系的图谱。

图 1: Agilent 高灵敏度 DNA 芯片电泳图谱。



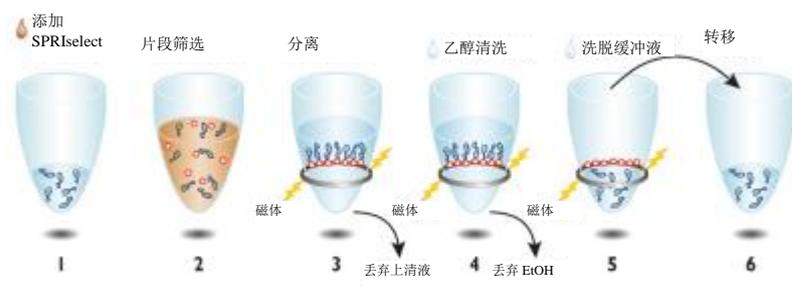
M = 高灵敏度 DNA 芯片的

Shear: 1ul 质控样品 (20ng/μL 核酸水溶液) 样品

1.2x 至 0.4x : 1 μL 片段化核酸筛选检测结果，使用给定的 **SPRIselect** 体积与样品体积比选择大小。

图 2

左侧筛选（去除小片段）过程概述



1. 充分混匀 **SPRI** 磁珠。按照图 1 所示的比例趋势，在样品中加入所需体积的 **SPRIselect**，以获得所需比例。

提示：样品体积 × 比例 = **SPRIselect** 体积。

示例：50 μL 样品 × 0.8x 比例 = 40 μL **SPRIselect**

2. 吹吸混匀 10 次，充分混匀磁珠与样品混合物，并在室温下孵育 1 分钟
或

以适当的速度涡旋混合 1 分钟直至混匀（取决于实验耗材和反应总体积）。

注释：样品和 **SPRIselect** 磁珠混合不充分会导致筛选结果不一致。确保充分混匀。

3. 将反应容器放置在适当的磁力架上，使 **SPRI** 磁珠吸附到磁力架上。吸附时间不同；初始样品体

积越大、SPRIselect 比越大或磁性越弱，所需的吸附时间越长。去除并丢弃澄清的上清液。

注释：在这个步骤中，应小心避免吸入超过痕量的磁珠，因为所需的库与磁珠相关。大量磁珠损失会导致产量降低。

4. 在反应容器仍放在磁力架上时，加入 180 μ L 85%乙醇（非变性）并在室温下孵育 30 秒。去除并丢弃乙醇上清液。

注释：在这个步骤中，应小心避免吸入超过痕量的磁珠，因为所需的库与磁珠相关。大量磁珠损失会导致产量降低。

5. 洗脱样品：

- a. 从磁力架上取下反应容器，并加入 ≥ 20 μ L 分子生物学级水或标准缓冲溶液（如 Tris 或 TE）。

注释：洗脱体积应足够大，液面足够高，以便磁珠能吸附到磁力架上。

- b. 吹吸混匀 10 次，充分重悬磁珠，并在室温下孵育 1 分钟
或

以适当的速度涡旋混合 1 分钟直至混匀（取决于实验室耗材和总体积）。

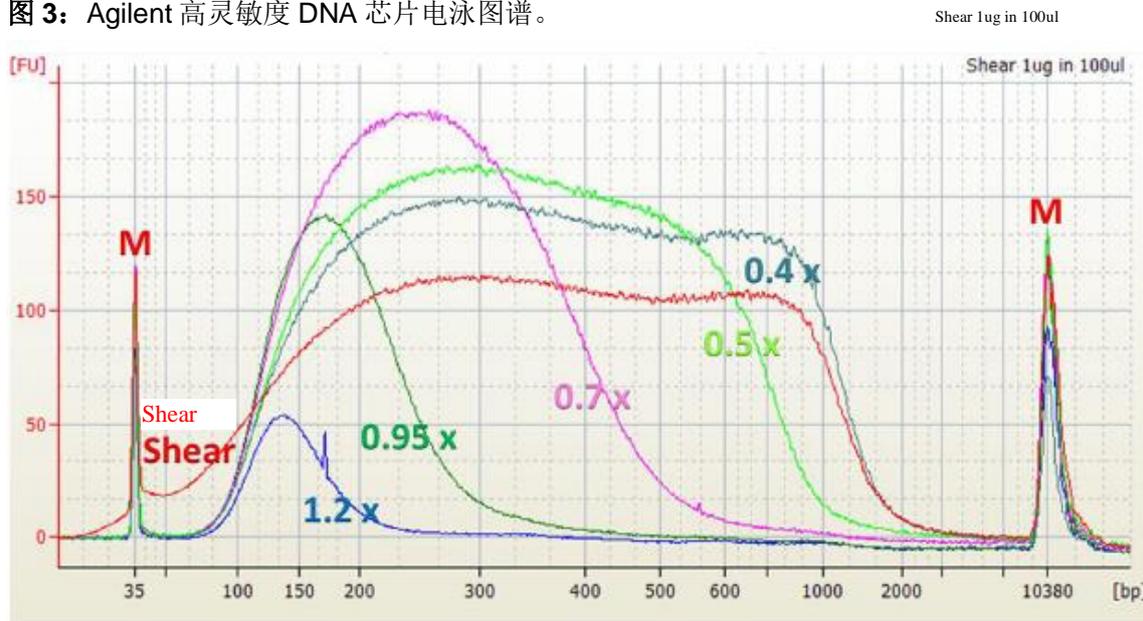
- c. 将反应容器放置在适当的磁力架，使 SPRI 磁珠吸附到磁力架上。吸附时间不同：洗脱体积越大或磁性越弱，所需的吸附时间越长。

6. 将洗脱液（左侧筛选-去除小片段的样品样品）转移到适当的储存容器中。

【右侧筛选（去除大片段）】

一般而言，增大 SPRIselect 体积与样品体积比会降低结合较大片段的效率。图 3 所示为这种关系的图谱。

图 3: Agilent 高灵敏度 DNA 芯片电泳图谱。



M = 高灵敏度 DNA 芯片的。

Shear: 1ul 质控样品 (20ng/μL 核酸水溶液) 样品 1.2x 至 0.4x : 1 μL 片段化核酸筛选检测结果，使用给定的 SPRIselect 体积与样品体积比选择大小。

图 4

右侧筛选（去除大片段）过程概述



1. 充分混匀 SPRI 磁珠。按照图 3 所示的比例趋势，在样品中加入所需体积的 SPRIselect，以获得所需比例。

提示：样品体积 × 比例 = SPRIselect 体积。

示例：50 μL × 0.7x 比例 = 35 μL SPRIselect

2. 吹吸混匀 10 次，充分混匀磁珠与样品混合物，并在室温下孵育 1 分钟
或

以适当的速度涡旋混合 1 分钟直至混匀（取决于实验室耗材和反应总体积）。

注释：样品和 SPRIselect 磁珠混合不充分会导致大小选择结果不一致。确保充分混匀。

3. 将反应容器放置在适当的磁力架上，使 SPRI 磁珠吸附到磁力架上。吸附时间不同；初始样品体积越大、SPRIselect 比越大或磁性越弱，所需的吸附时间越长。
4. 将样品澄清上清液（含有右侧筛选样品）转移到新的反应容器中。含有剩余磁珠的反应容器可以丢弃。

注释：在这个步骤中，应小心避免吸入超过痕量的磁珠，因为不需要的较大片段与磁珠相关。大量磁珠转移会留下较大的片段，导致拖尾。
5. 使用以下计算，将所需体积的 SPRIselect 磁珠加入上文步骤 4 获得的上清液中。这样会使上清液中的片段与新 SPRI 微球结合。

提示：样品体积 $\mu\text{L} \times (1.8x - \text{初始比例}) = \text{SPRIselect 体积}$
示例： $50 \mu\text{L} \times (1.8 - 0.7) = 55 \mu\text{L SPRIselect}$
6. 执行下列操作：
 - a. 吹吸混匀 10 次，充分混匀磁珠与样品混合物，并在室温下孵育 1 分钟
或
以适当的速度涡旋混合 1 分钟直至混匀（取决于实验室耗材和反应总体积）。

注释：样品和 SPRIselect 磁珠混合不充分会导致片段筛选结果不一致。
 - b. 将反应容器放置在适当的磁力架上，使 SPRI 磁珠吸附到磁力架上。吸附时间不同；初始样品体积越大、SPRIselect 比越大或磁性越弱，所需的吸附时间越长。
 - c. 去除并丢弃澄清的上清液。

注释：在这个步骤中，应小心避免吸入超过痕量的磁珠，因为所需的库与磁珠相关。大量磁珠损失会导致产量降低。
7. 在反应容器仍放在磁力架时，加入 180 μL 85%乙醇（非变性）并在室温下孵育 30 秒。去除并丢弃乙醇上清液。

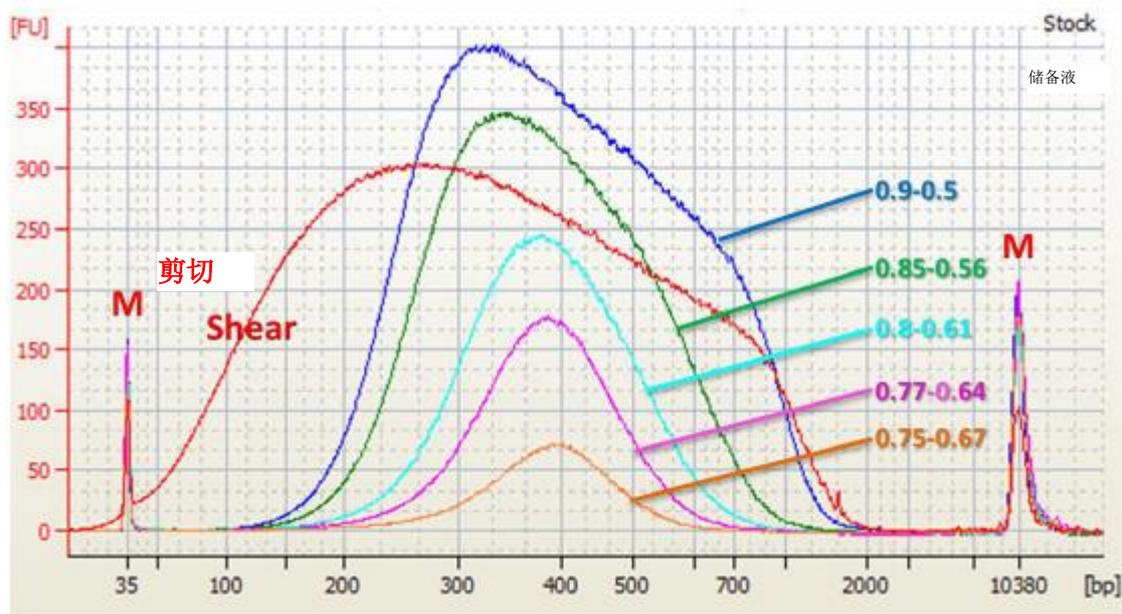
注释：在这个步骤中，应小心避免吸入超过痕量的磁珠，因为所需的库与磁珠相关。大量磁珠损失会导致产量降低。
8. 洗脱样品：
 - a. 从磁力架上取下反应容器，并加入 $\geq 20 \mu\text{L}$ 分子生物学级水或标准缓冲溶液（如 Tris 或 TE）。

注释：洗脱体积应足够大，液面足够高，以便磁珠吸附到磁力架上。
 - b. 吹吸混匀 10 次，充分重悬磁珠，并在室温下孵育 1 分钟
或
以适当的速度涡旋混合 1 分钟直至混匀（取决于实验室耗材和总体积）。
 - c. 将反应容器放置在适当的磁力架上，使 SPRI 磁珠吸附到磁力架上。吸附时间不同；洗脱体积越大或磁性越弱，所需的吸附时间越长。
9. 将洗脱液（右侧筛选-去除大片段的样品样品）转移到适当的储存容器中。

【双侧筛选注意事项】

一般而言，左侧筛选比例应始终大于右侧筛选比例。图 5 所示为这种关系的图谱。

图 5: Agilent 高灵敏度 DNA 芯片电泳图谱。



M = 高灵敏度 DNA 芯片的

Shear: 1ul 质控样品 (20ng/μL 核酸水溶液) 样品 0.XX 至 0.XX =: 1 μL 片段化核酸筛选检测结果, 使用给定的左侧和右侧 **SPRIselect** 体积与样品体积比

表 1 典型回收率 (通过实验确定)

比例 (左-右)	bp 区域	筛选 Delta (bp)	bp 区域片段化百分比	bp 区域的回收百分比	片段化区域的回收百分比
片段化	40-3000	2960	100.0%	100.0%	100.0%
0.9-0.5	175-1300	1125	72.7%	60.4%	43.9%
0.85-0.56	200-700	500	61.8%	49.6%	30.6%
0.8-0.61	230-660	430	52.1%	33.4%	17.4%
0.77-0.64	260-575	315	40.8%	21.1%	8.6%
0.75-0.67	280-540	260	33.7%	10.1%	3.4%

根据 Agilent 2100 Expert Smear Region 分析浓度计算百分比。[pg/μL]

表 1 定义:

比例 (左-右): 左侧筛选比例-右侧筛选比例

bp 区域: 针对给定比例 (左-右) 分析的 Agilent 2100 Expert Smear Region

选择 Delta (bp): bp 区域的左右选择点之间的差异

示例: 660 右侧 bp - 230 左侧 bp = 430 bp Delta

表 2 回收率 - 注释: 表 1 中所示的 0.8-0.61 比例样品将被用于以下所有定义示例

	定义	图表
<p>bp 区域的片段化百分比</p>	<p>目标筛选区域的储备液样品的最大潜在回收率。</p>	<p>The chart displays a DNA fragmentation distribution with fluorescence intensity [FU] on the y-axis (0 to 300) and fragment size [bp] on the x-axis (35 to 10380). A red curve represents the total distribution, and a blue shaded area under the curve between approximately 250 bp and 700 bp represents the maximum potential recovery in that target region. Two peaks labeled 'M' are visible at approximately 35 bp and 10380 bp.</p>
<p>bp 区域的回收百分比</p>	<p>目标区域的回收百分比</p>	<p>The chart displays a DNA fragmentation distribution with fluorescence intensity [FU] on the y-axis (0 to 300) and fragment size [bp] on the x-axis (35 to 10380). A red curve represents the total distribution, and a blue shaded area under the curve between approximately 250 bp and 600 bp represents the actual recovery percentage in that target region. Two peaks labeled 'M' are visible at approximately 35 bp and 10380 bp.</p>
<p>回收的片段化百分比</p>	<p>片段化样品的回收百分比。</p>	<p>The chart displays a DNA fragmentation distribution with fluorescence intensity [FU] on the y-axis (0 to 300) and fragment size [bp] on the x-axis (35 to 10380). A red curve represents the total distribution, and a blue shaded area under the curve between approximately 250 bp and 600 bp represents the recovery percentage of fragmented samples in that target region. Two peaks labeled 'M' are visible at approximately 35 bp and 10380 bp.</p>

【常见实验室试剂对片段筛选的影响】

在反应中加入表 3 中所述的常见实验室试剂（作为添加剂），以确定对片段筛选的影响。

- 以下各左侧筛选（去除小片段）是 1ug 片段化核酸 50 μL + 50 μL 添加剂 + 65 μL SPRIselect（0.65x 比例）。在 100 μL 水中最终洗脱。在 Agilent 高灵敏度 DNA 芯片上运行 1 μL 洗脱液。
- 提示：如果有下文未列出的可能使用的试剂添加剂，应使用此稀释方案测试其对大小选择是否有任何影响。
- “0.65x 质控品”（红色轨迹）是 0.65x 左侧筛选的预期选结果。
- 添加剂的浓度见电泳图谱表。
- “M”是 Agilent 高灵敏度 DNA 分析芯片的大小标记。
- 请谨记，添加剂的影响是累积的。如果有多种添加剂都会使选择向同一方向移动，则结果将大于任何单独组分。如果一些组分将选择向左移动，另一些向右移动，则可能几乎没有影响。

表 3 常见实验室试剂对大小选择的影响。蓝色背景表示更宽的选择范围。红色背景表示更窄的选择范围。

添加剂	影响	Agilent 高灵敏度芯片跟踪
DMSO (二甲基亚砜)	无	
DTT (二硫苏糖醇)	无	

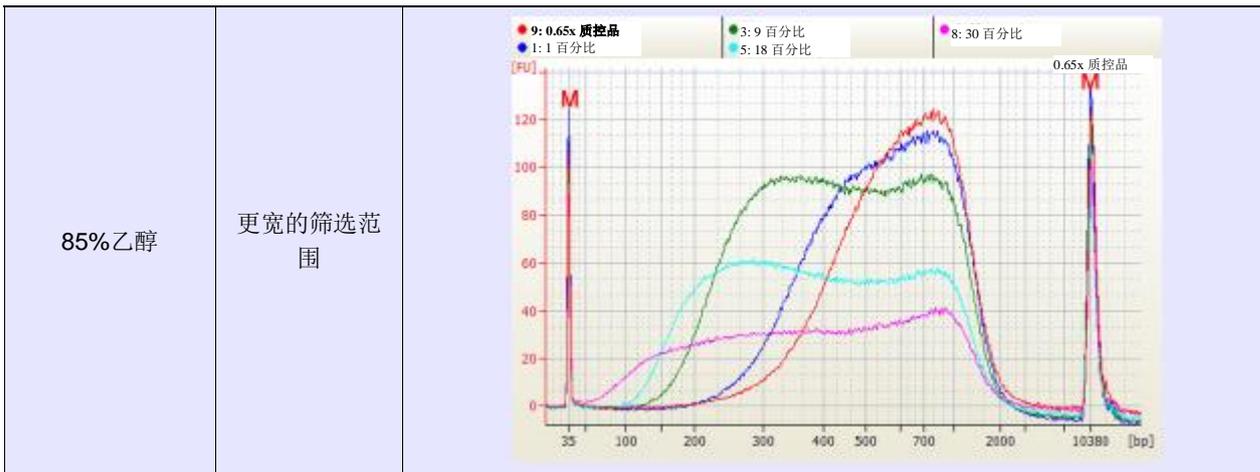


表 3 常见实验室试剂对片段筛选的影响。蓝色背景表示更宽的筛选范围。红色背景表示更窄的筛选范围。

添加剂	影响	Agilent 高灵敏度芯片跟踪
<p>甘油</p>	<p>更窄的筛选范围</p>	
<p>KCl (氯化钾)</p>	<p>无</p>	

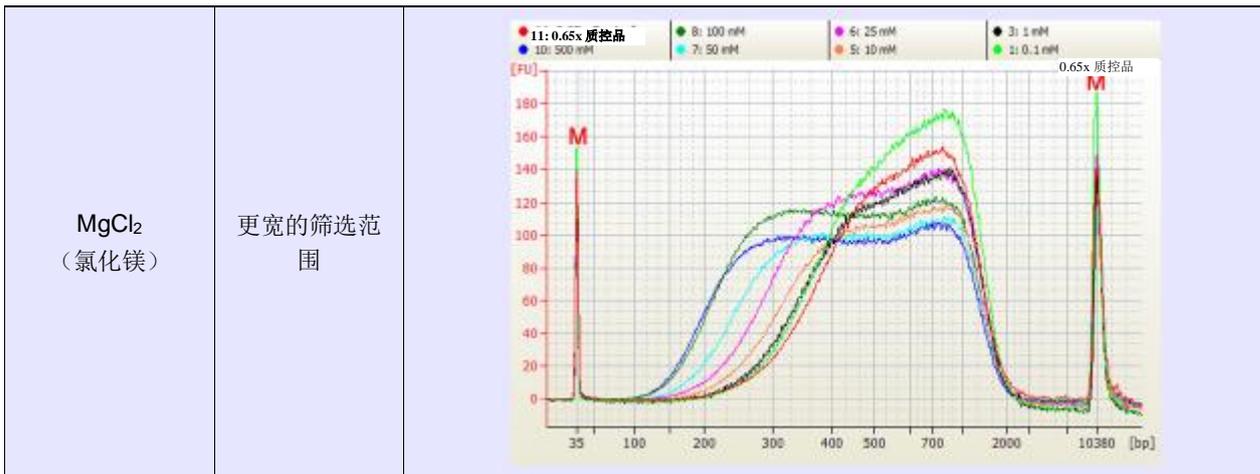


表 3 常见实验室试剂对片段筛选的影响。蓝色背景表示更宽的筛选范围。红色背景表示更窄的筛选范围。

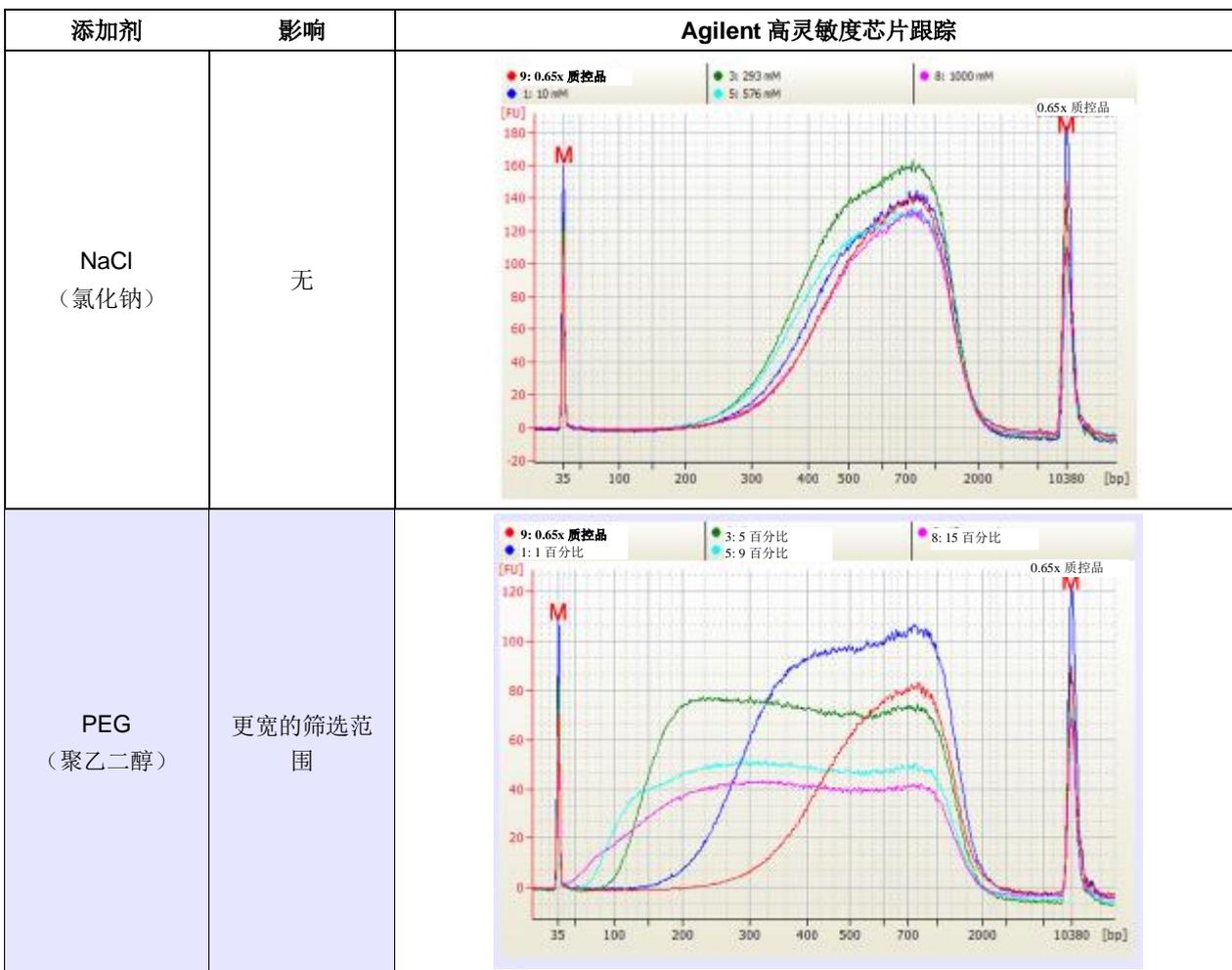


表 3 常见实验室试剂对大小选择的影响。蓝色背景表示更宽的选择范围。红色背景表示更窄的选择范围。

添加剂	影响	Agilent 高灵敏度芯片跟踪
pH	pH < 3 时, 更窄的筛选范围。 pH ≥ 3 时, 无影响。	
醋酸钠	无	

bp	碱基对
双侧筛选	用同一个样品进行左侧和右侧片段筛选
左侧筛选	定义样品片段分布的新起始点
µg	微克
µL	微升
ng/µL	纳克/微升
右侧筛选	定义样品片段分布的新终点
RT	室温（15-30°C）
Tris	三(羟甲基)氨基甲烷（10 mM，pH 8）
TE	Tris 与 乙二胺四乙酸（10 mM Tris，pH 8，1 mM EDTA）

C

添加剂的浓度, [1-10](#)

H

高灵敏度 DNA 芯片, [1-5](#)

 双侧筛选, [1-8](#)

 左侧筛选, [1-3](#)

L

左侧和右侧筛选最大化回收率, [1-2](#)

左侧筛选最大化回收率, [1-2](#)

M

最大化回收率

 左侧和右侧筛选, [1-2](#)

 左侧筛选, [1-2](#)

 右侧筛选, [1-2](#)

R

右侧大小选择最大化回收率, [1-2](#)

S

样品必要条件, [1-2](#)

样品体积, [1-2](#)

标准缓冲溶液, [1-2](#)

T

商标, [i-ii](#)

www.beckmancoulter.com

