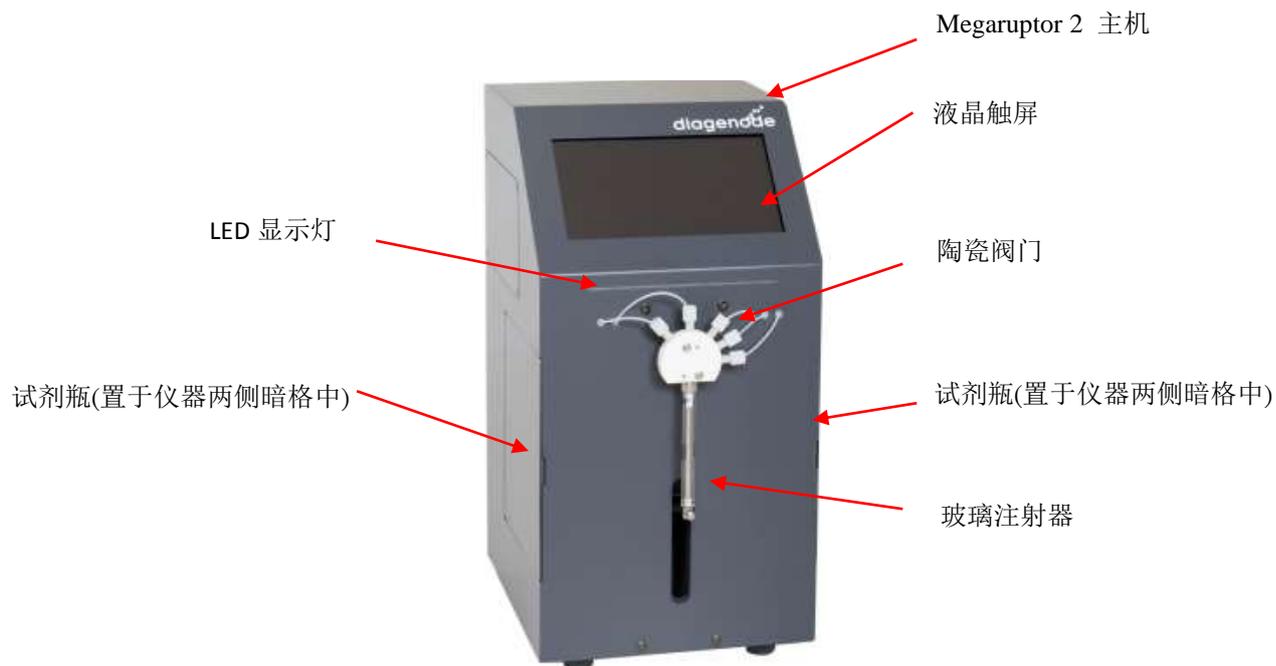


Megaruptor 2 使用手册

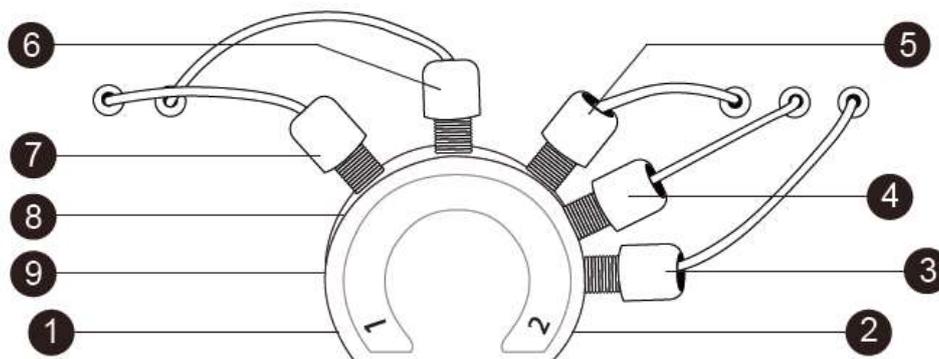


仪器组成

1. 仪器整体



2. 陶瓷阀门



Port 1: 样本 1 放置位置

Port 2: 样本 2 放置位置

Port 3: 10mM TE buffer 试剂瓶连接位置

Port 4: ddH₂O 试剂瓶连接位置

Port 5: 0.5M NaOH 试剂瓶连接位置

Port 6: 0.5M HCl 试剂瓶连接位置

Port 7: 废液瓶连接位置

Port 8: 空气

Port 9: 未使用

注:

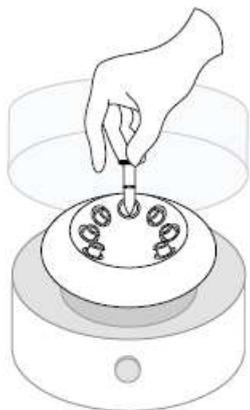
- 所有试剂包括 0.5M HCl; 0.5M NaOH, H₂O 以及 10mM TE buffer 以及 ddH₂O, 于使用前均须经过 0.22um PES 滤膜过滤
- 试剂瓶中蓝色的吸液头必需插至瓶底, 以免吸入空气
- 每次仪器执行清洗步骤时, 会消耗 1.5ml 的 HCl, NaOH, 以及 ddH₂O, 以及约 4 ml 的 TE, 请随时注意试剂瓶中的试剂存量

样本制备注意事项

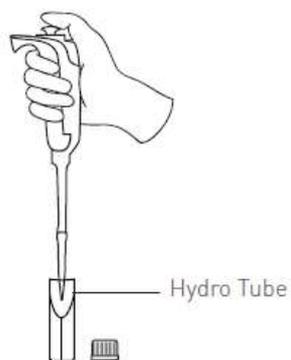
1. 为预防样本阻塞导致仪器运作异常, 适当的 DNA 样本浓度以及高纯度 DNA 是首要条件
 2. 样品须不含蛋白质或其他细胞碎片, 特别是植物样本, 通常在 DNA 纯化过程中会加入清洁剂如 SDS、CTAB、或 skarkosyl, 如果在剪切过程中样本含有此类清洁剂会使样品起泡, 泡泡中因有空气会造成样品体积的意外增加, 将影响剪切的精准度以及仪器效能
 3. 如果样本中有清洁剂或悬浮颗粒等的不纯物质, 最好是离心去除 DNA 溶液中的这些杂质, 避免堵塞 Hydropore, 处理方式为 16000×g 室温离心 15 分钟, 取出含 DNA 的上清液, 留下沉淀物不要扰动. 若 DNA 本身已经沉淀, 在离心之前, 可使用加热或搅拌的方法来溶解 DNA 后再离心, 这样可使 DNA 样本不会损失
 4. 原则上, Megaruptor®2 能够在各种 DNA 浓度下进行 DNA 剪切, 但是当在处理高浓度 DNA, 特别是高分子量基因组 DNA 样本时, 因为样本黏稠度过高, 会让样本通过管路及 Hydropore 的速度比预期的慢, 导致样本处理过程发生问题, 产生不可预期的结果, 高浓度的基因组 DNA 也有凝聚成块的倾向, 当这现象发生时, 可以通过快速 pipetting 样本的方式减少凝聚成块的现象
 5. DNA 浓度范围: 1~50ng /ul, 最佳样本浓度为 25ng/ul. 若样品浓度大于 50ng /ul 时, 建议将样本以 TE buffer 稀释并分批剪切, 若样本因高分子量使样本过于黏稠, 可先以枪头快速 pipetting 几次降低浓稠度之后再以 Megaruptor 2 进行剪切
- 样本体积范围: 50ul~和400ul之间, 最佳样本体积为200ul. 若剪切大小为3kb的片段, 建议使用100ul~250ul的样本. 若样本超过建议浓度, 可以以同样一支Hydropore分批处理同一样本, 但是使用次数取决于样品的纯度。
 - 若剪切大小为3kb 的片段, 建议使用100ul~250ul 的样本. 若样品< 75ul, 在3 kb 的片段的剪切时可能会产生大于预期的片段, 原因可能是因为有小气泡导致流量降低, 意外增加的长度通常不超过300 bp.

剪切程序操作注意事项

1. 移除样本不纯物质：处理方式为 16000×g 室温离心 15 分钟将不纯物质去除



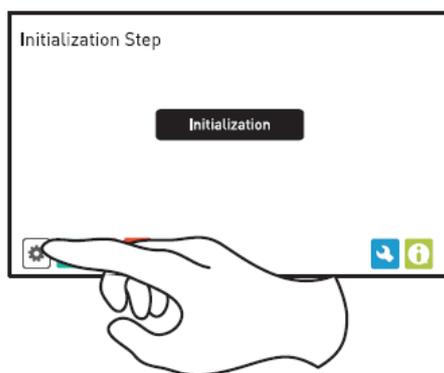
2. 加 DNA 1~50ng/ul 样本到 Hydro Tube 中



3. 将仪器主电源打开，等待仪器进入主页面时轻触液晶屏幕，此时“Initialization”按键会自动出现，按下 Initialization 后让玻璃注射器归零到工作起始位置

注：

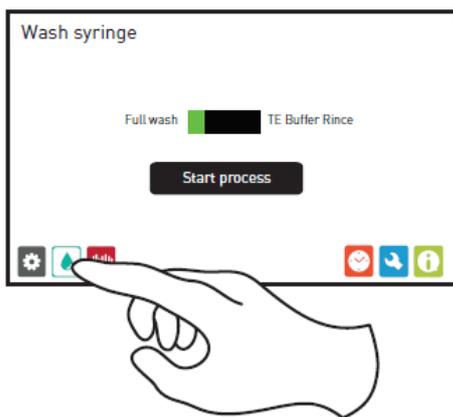
当在连续操作过程中若是想让玻璃主射器归零，按下  按键时也可回到“Initialization”画面



4. 清洗注射器: 按下  按键, 进行管线清洗动作

注:

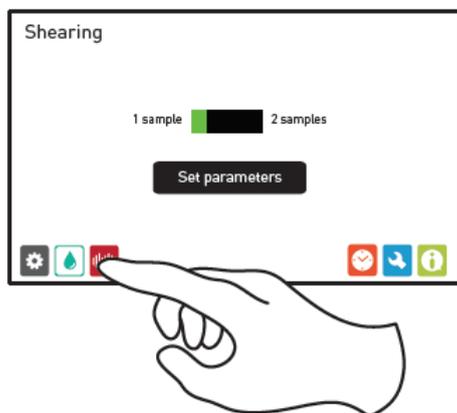
- 仪器**当天首次开机**时, 请务必执行“Full wash”程序, 让管线彻底清洗避免样本遭受污染
- 若仪器在同一天已经执行过数个样本剪切, 要进行下一批次的剪切时, 可以仅执行 TE Buffer Rinse 功能



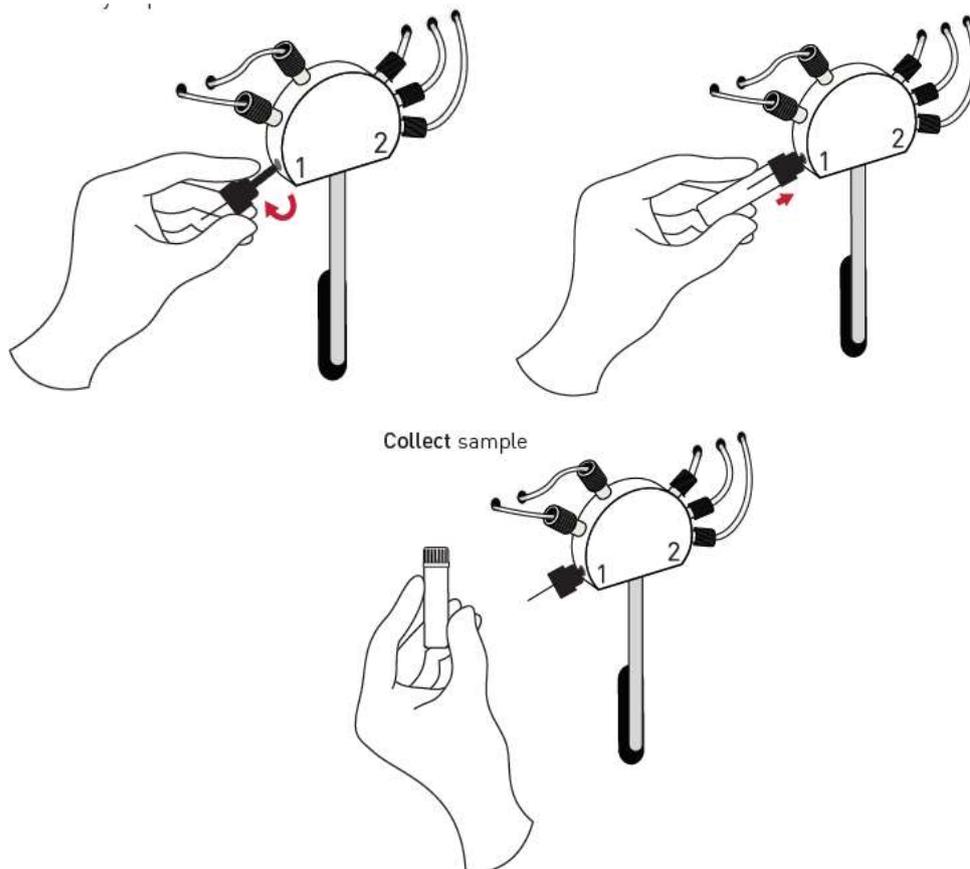
5. 剪切参数设定: 按下  按键, 先选择样本处理支数, 再按下 “Set parameters” 按键进入下一画面, 按照样本的剪切大小(请再三确认 Hydropore 长短是否正确), 再依次输入样本体积, 浓度, 欲剪切的片段大小, 以及是否执行 “Pre-Load Hydropores” 功能

注:

- Hydropore – short 白色: 处理的样本片段大小为 3~9Kb
- Hydropore – long 黑色: 处理的样本片段大小为 10~75Kb
- **Pre-load Hydropore** 此功能是最大限度地减少仪器中混入空气导致样品飞溅的情况发生, 以及更一致的结果, 建议对每个样品进行 Pre-load Hydropore.
- **Pre-load Hydropore** 会将加 45ul 的 TE buffer 到样本中, 若样本无法稀释, 请略过 Pre-load Hydropore 步骤



6. 将正确的 Hydropore 锁入 1 以及 2 (如果同时处理两个样本) 的位置, 然后执行 **Pre-Load Hydropores**, 等仪器执行 **Pre-Load Hydropores** 之后再把 Hydro tube 插入 Hydropore 上, 并同时确认两者紧密连接以免漏液, 必要时可将 Hydro Tube 的盖子取下, 等样本剪切完毕时再盖回



注:

- **Pre-load Hydropore** 此功能是最大限度地减少仪器中混入空气导致样品飞溅的情况发生, 以及更一致的结果, 建议对每个样品进行 **Pre-load Hydropore**.
- **Pre-load Hydropore** 会将加 45ul 的 TE buffer 到样本中, 若样本无法稀释, 请略过 **Pre-load Hydropore**

7. 按下“Star”按键执行 DNA 剪切, 此时会进入“Instrument Status”窗格, 可实时观察到样本剪切进度, 此时荧屏上会显示 “Stop” 以及 “Pause” 按键, 仪器运行时若按下 “Stop” 按键仪器会自动停止, 但是请务必确认但按下停止键后, 目前正在执行的程序将不可能再回复, 必须重来; “Pause” 按键可暂时中止仪器运行, 再按下“Continue” 按键之后仪器将从暂停处继续之后继续工作

紧急处置

仪器运行时若遇到不可预测的错误发生或发生停电事件，当事件解决后要抢救样本时，请按下



按键后按下“Sample Recovery”选项，选择要抢救的样本，按下“Recover”按键，此时仪器会自动吸入空气，将所有样本吐回 hydro tube 中

日常保养

仪器每次开机时，请务必先执行“Full wash”功能，使管线以及玻璃注射器彻底洗净

每日的工作结束前，也请再执行一次“Full wash”功能之后再关机

每隔几周或剪切过若干样本之后，建议连续执行3次“Full wash”，让仪器彻底清洁，**周数与样本数**可由实验室自行决定