

## 2100 仪器检测文库质量（片段尺寸是否符合要求）

表 1：安捷伦高灵敏度 DNA 试剂盒

安捷伦高灵敏度 DNA 试剂盒（订货数量：5067—4626）	
DNA 芯片	安捷伦高灵敏度 DNA 试剂（订货数量：5067—4627）
10 高灵敏度 DNA 芯片	高灵敏度 DNA Ladder（黄色盖子）
1 电极清洗器	高灵敏度 DNA Markers（35/10380 bp）（4 管，绿色盖子）
注射器套件	高灵敏度 DNA 染色溶液（1 管，蓝色盖子）
注射器	高灵敏度 DNA 胶混合物（2 管，红色盖子）
涡旋混合器	

表 2：物理和分析规格

类型	规格/安捷伦高灵敏度 DNA 分析
分析运行总时间	45 分钟
可测定样品数量	每个芯片可测定 11 个样品
样品用量	1 $\mu$ l
样品 DNA 浓度范围	0.005ng/ $\mu$ l~0.5 ng/ $\mu$ l
试剂盒稳定性	4 个月
测定 DNA 尺寸范围	50~7000bp
样品最大盐离子浓度	10mM Tris, 1mMEDTA

### 1. 芯片工作站

- 1) 用新的注射器替换旧的注射器；
- 2) 注射器紧密连接芯片工作站；
- 3) 连接完成后，注射器气密性检测；
- 4) 调整基部面板及注射器套件，准备上样检测文库质量。

### 2. 生物分析器（调整芯片选择器）

- 1) 打开仪器盖子，检查电极盒是否在仪器内；

2) 移除使用过的芯片，调整芯片选择器的位置。

### 3. 涡旋混合器

调整涡旋混合器的速度为 2400rpm，每个芯片使用时间为 1min。

### 4. 启动 2100 仪器软件（双击桌面仪器控制软件图标）

### 5. 注意事项

- 1) 试剂和样品避免灰尘及其它污染，试剂在 4℃ 存放；
- 2) 试剂使用前，先在室温条件下平衡 30 分钟；
- 3) DNA 染色试剂（蓝色盖子）存放及使用时均应避光；
- 4) 加样时墙头尖端接触加样槽底端，避免接触加样槽边缘，加样时尽量避免产生气泡；
- 5) 加样完毕，5 分钟内立即进行上机测试，避免放置较长的时间；
- 6) 仪器运行过程中，避免触摸仪器硬件，放置仪器的桌面保持静止状态，避免震动；
- 7) 放置芯片、清洗电极及开关 2100 仪器盖子时动作要轻，避免出现较大的碰撞或震动而导致损坏电极。

## 安捷伦高灵敏度 DNA 分析流程：

### 一. 制作胶、染色混合物（Preparing the Gel-Dye Mix）

1. 高灵敏度 DNA 染色溶液（1 管，蓝色盖子）、高灵敏度 DNA 胶混合物（2 管取 1 管，红色盖子）室温平衡 30min；
2. 低速涡旋高灵敏度 DNA 染色溶液 10 秒，确保 DMSO 完全融化；
3. 取 15 $\mu$ l 高灵敏度 DNA 染色溶液（1 管，蓝色盖子）加到高灵敏度 DNA 胶混合物（1 管，红色盖子），剩余 DNA 染色液放置到 4℃ 避光保存；
4. 盖好管盖，涡旋 10 秒，使胶混合物与染色液充分混匀；
5. 上述胶、染色液混合物全部转移至过滤管中，室温 2240g（6000rpm）离心

10min;

6. 弃过滤管，离心下来的胶、染色液混合物标记备用。

注意事项：

- (1) 制作一次胶、染色液混合物可供 5 次 DNA 测定用量，并且在 6 周内使用完毕；
- (2) 制作的胶、染色液混合物使用时避光，多余的胶、染色混合物放置在 4℃、避光保存。

## 二、装载胶、染色混合物

1. 胶、染色混合物使用前室温热平衡 30min，同时进行避光处理；
2. 取新的高灵敏度 DNA 芯片（一次性使用），向第 3 排第 4 个样品槽（标记号码为 G）底端加 9μl 胶、染色混合物，注意不能产生气泡；
3. 取新的注射器，连接到芯片工作站；并将使用过的 DNA 芯片，正确放置在芯片工作站内，将注射器活塞拉到 1ml 位置，关闭扣紧芯片工作站，将活塞压至注射器底端，扣紧夹子；
4. 60 秒后松开夹子，约 5~10 秒，活塞能够恢复到 0.8~1ml 位置，表明气密性良好；若不能恢复到该位置，考虑可能漏气，需检查漏气原因，并进行校正；
5. 校正好之后（气密性较好），旧的 DNA 芯片取出，将加载有胶、染色混合物的 DNA 芯片正确放入芯片工作站中，将注射器活塞拉到 1ml 位置，关闭扣紧芯片工作站，将活塞压至注射器底端，扣紧夹子；
6. 60 秒后松开夹子，活塞立即恢复到 0.3ml 位置；
7. 5 秒以后活塞逐渐恢复到 1ml 位置；
8. 打开芯片工作站，向 DNA 芯片第 1、2、4 排第 4 个样品槽中分别加入 9μl 胶、染色混合物，注意不能产生气泡。

注意事项：

胶、染色混合物使用过程中避光处理，多余的胶、染色混合物 4℃ 避光保存。

### 三. 加载 **Marker**、**Ladder** 和样品 (**Samples**)

1. 向其它 12 个样品槽中分别加 5 $\mu$ l (绿色盖子) 高灵敏度 DNA Markers;  
    注意事项: 每个样品槽不能空置, 否则芯片不能正常运转。
2. 向标记有 ladder symbol 的样品槽内加高灵敏度 DNA Ladder (黄色盖子) 1 $\mu$ l,  
    其它 11 个样品槽内加 1 $\mu$ l 样品或 1 $\mu$ l Marker (未使用的样品槽);
3. 加样完成, 将 DNA 芯片放入涡旋混合器中, 2400rpm 涡旋混合 1min。

注意事项:

- (1) 为得到最佳实验结果, 样品 DNA 最好融于含 10mM Tris、1mM EDTA 溶液中;
- (2) 涡旋速度不宜太高, 避免样品槽中液体溅出;
- (3) 加样完成后 5 分钟内, 尽快下一步操作步骤。

### 四. DNA 芯片安装

1. 打开 2100 仪器盖子, 检查电极盒、芯片选择器放置是否正确;
2. 将 DNA 芯片 (加好样品) 小心放入芯片选择器中;
3. 关上 2100 仪器盖子, 电极盒上电极刚好与芯片中的样品充分接触;
4. 2100 仪器控制软件界面显示盖子盖上及 DNA 芯片图标。

注意事项: 打开和关上盖子时, 动作轻柔, 避免损坏电极; 盖上盖子时, 避免有样品溅出。

### 五. 运行测定程序 (**Starting the Chip Run**)

1. 从分析菜单中选择恰当的分析方法, 如 DNA 文库, 则选择 dsDNA; RNA 文库, 则选择 RNA;
2. 接受仪器命名的文件名, 或手动修改 File Prefix 菜单中的文件名 (测定数据自动保存在该文件中);
3. 输入样品信息, 完成样品名称表格的填写 (可不填写);
4. 点击 Start 按钮, 开始运行测定程序;
5. 运行结束, 立即将 DNA 芯片从仪器中取出 (避免电极受到污染)。

## 六. 电极维护

- (1) 350  $\mu$ l 去离子 ddH<sub>2</sub>O 加入到电极清洗盒中;
- (2) 打开盖子将电极清洗盒放置在 2100 仪器中;
- (3) 关闭盖子 (电极与去离子 ddH<sub>2</sub>O 充分接触), 清洗 10 秒钟;
- (4) 打开盖子, 拿出电极清洗盒;
- (5) 10 秒钟后关闭盖子 (让电极上的水自然蒸发);
- (6) 下一次电极使用前, 需要用电极清洗盒 (加 350  $\mu$ l 去离子 ddH<sub>2</sub>O) 清洗电极 10 秒钟, 等待 10 秒钟后 (让电极上的水蒸发) 开始使用;
- (7) 电极多次使用后, 需要用超声波清洗: 电极从仪器中取出后放置在烧杯中 (内加适量去离子 ddH<sub>2</sub>O), 然后将烧杯放置在超声波仪器中 (内有适量蒸馏水), 超声波处理 15 分钟, 芯片放置在干燥器中干燥 7 天以上。

## 七. 检测高灵敏度 DNA 分析结果

- (1) 高灵敏度 DNA Ladder 较好的分析结果: 出现 15 个峰 (包括 lower marker 和 upper marker); 所有的峰具有较高的分辨率; 基线平稳; lower marker 和 upper marker 能够被正确识别;
- (2) 高灵敏度 DNA 样品较好的分析结果: 所有样品峰均出现在 lower marker 和 upper marker 峰之间; 基线平稳; 基线读数至少 5 个荧光单位; Marker 读数至少高于基线读数 3 个荧光单位; 能够很好的区分 marker 峰和样品峰。