

DNA片段分选磁珠说明书

【产品名称】

DNA片段分选磁珠

【包装规格】

5mL/盒 (NG-MB0015-5mL), 60mL/盒 (NG-MB0015-60mL), 450mL/盒 (NG-MB0015-450mL)

【预期用途】

该产品适用于二代测序建库过程中DNA片段的分选与纯化, 可根据不同的加样条件, 得到不同大小的DNA文库。

【储存条件及有效期】

储存于 2-8°C, 有效期为 12 个月。

【自备试剂和器材】

1. 80%乙醇
2. 洗脱液: 10mM Tris-HCl (pH 8.0) 或无菌水
3. 设备: 移液器、涡旋振荡器、磁力架 (瑞贝西 12 孔磁力架)、离心管

【注意事项】

1. 本试剂为磁珠悬液, 严禁冷冻、离心, 第一次使用前需充分涡旋混匀;
2. 建议样本体积至少为 100 μ L, 从而降低加样误差; 若样本体积不足 100 μ L 可用水补足;
3. 磁珠使用前须提前半小时取出, 平衡至室温;
4. 磁珠请勿过分干燥, 否则会降低洗脱效率。

【DNA 片段分选操作步骤】

1. **一次结合:** 将样本加入 1.5mL 离心管中, 参照下表 1 加入特定体积的磁珠悬液, 涡旋混匀后室温静置 10min。将离心管置于磁力架上至溶液完全澄清, 将上清转移到一新的 1.5mL 离心管中, 弃去磁珠。
注: 磁珠悬液加入量=样本体积*第一次结合比率。
2. **二次结合:** 参照下表 1, 在上述新的离心管中加入特定比率的磁珠悬液, 涡旋混匀后室温静置10min。将离心管置于磁力架上至溶液完全澄清, 弃去上清。
注: 磁珠悬液加入量=样本体积*第二次结合比率。
3. **清洗 1:** 保持离心管固定于磁力架上, 加入 200 μ L 80%乙醇, 静置 1min, 无需重悬磁珠, 弃去上清 (保持离心管固定于磁力架上)。
4. **清洗 2:** 重复步骤 3 一次。
5. **除醇:** 保持离心管置于磁力架上, 静置通风 2-5min 除醇。
注: 除醇过程中请勿过分干燥磁珠, 否则会降低纯化效率。
6. **洗脱:** 将离心管从磁力架上取下, 加入 30 μ L 洗脱液洗脱, 涡旋混匀后室温静置 10min。
7. **转移核酸:** 将离心管置于磁力架上, 静置 2-5min, 待磁珠完全吸附后将上清转移至新样品管中备用。

【磁珠悬液的加入量参照表】

表 1 分选 DNA 片段大小与磁珠悬液加入量比率

分选片段大小	200-300bp	300-400bp	400-500bp	500-600bp	600-800bp
第一次结合比率	0.80×	0.70×	0.60×	0.55×	0.50×
第二次结合比率	0.20×	0.20×	0.20×	0.15×	0.15×

【PCR 产物纯化操作步骤】

- 结合：** 向待纯化的 PCR 产物样本中加入同等样本体积的磁珠悬液，涡旋混匀后，室温静置 5min。将离心管置于磁力架上至溶液完全澄清，弃去上清。
- 清洗 1：** 保持离心管固定于磁力架上，加入 200μL 80%乙醇，静置 1min，无需重悬磁珠，弃去上清（保持离心管固定于磁力架上）。
- 清洗 2：** 重复步骤 2 一次。
- 除醇：** 保持离心管置于磁力架上，静置通风 2-5min 除醇。
注：除醇过程中请勿过分干燥磁珠，否则会降低纯化效率。
- 洗脱：** 将离心管从磁力架上取下，加入 20-100μL 的洗脱液，涡旋混匀后，室温静置 5min。
- 转移核酸：** 将离心管置于磁力架上，静置 2-5min，待磁珠完全吸附后将上清转移至新的离心管中备用。