

操作手册

片段筛选磁珠

Catalog No. CT1501-1 CT1501-10 (50 次反应)
CT1501-50

概述:

本产品为超顺磁性微球，配合独特的缓冲液体系，在加入不同比例磁珠时，可吸附不同大小的 DNA 片段（如酶切产物，质粒，PCR产物，基因组DNA），从而达到片段筛选的目的。本产品操作简单，使用便捷，筛选后的产物可直接用于二代测序平台的文库构建。本产品可手工操作，也适用于自动化的工作站。

组件名称	规格 (10ml)	规格 (50ml)	保存温度
片段筛选磁珠	10 ml	50 ml	2-8°C
DNA 洗涤液	1 份	1 份	常温
DNA 洗脱液			

Note –售出后一年内产品质量是可以保证。试剂已经过大量的常规检测来保证其可操作性。

注意事项

- 1. 片段筛选磁珠须在 2-8℃ 储存，防止冷冻。
- 2. 使用本产品前，必须仔细阅读本说明书。
- 3. 用户需自备洗涤液（70-80%乙醇，现配现用）和洗脱液。
- 4. 本产品可完美替换进口文库筛选磁珠。

操作步骤

1. 准备步骤:

- a) 根据所需目的片段的大小确定片段筛选磁珠的加入量（依照下表进行选择）:

起始倍数	最终倍数	选择片段范围	峰值 (bp)
0.9×	1.1×	200~260 bp	230
0.8×	1.0×	250~320 bp	250
0.7×	0.9×	270~350 bp	300
0.6×	0.8×	300~500 bp	350
0.5×	0.7×	330~700 bp	450
0.4×	0.6×	500~1000 bp	800

加入磁珠量的计算：加入磁珠量=（倍数）×原始 DNA 样本体积

- b) 使用前确保磁珠混合均匀。
c) 实验前需准备洗脱液和新鲜配置的 70%-80%乙醇。

2. 第一次结合

- a) 将样本置于 1.5ml 离心管中，加入预先计算好的磁珠的量(起始倍数)。移液器吹吸混匀 5 次，在室温下孵育 5 分钟。短暂离心以收集所有液体。（此过程中磁珠主要吸附大的 DNA 片段，小的 DNA 片段仍留在溶液中。）

注意：不要漩涡震荡，可能会降低磁珠的结合效率。

例如，样本量为 50ul，所需目的片段大小为 350bp 左右，则此步骤中加入磁珠的量为 $0.6 \times 50 \text{ul} = 30 \text{ul}$ 。

- b) 将离心管置于磁力分离器上，静置 1 分钟使磁珠从溶液中完全分离出来。
c) 将上清转移至一个新的离心管中，此时目的 DNA 片段存在于上清中。

注意：转移上清时不要带走磁珠，若磁珠移除不彻底会使最终的分选结果发生变化。

3. 第二次结合

*

a) 按照比例在上清中继续加入混合均匀的磁珠，用移液器轻柔吹吸混匀 5 次。

加入体积=(最终倍数-起始倍数)×原始 DNA 样本体积，例如样本量为 50ul，所需目的片段大小为 350bp 左右，则此步骤中加入磁珠的量为 (0.8-0.6) ×50ul=10ul.

b) 短暂离心以收集液体，于室温孵育 5 分钟。

c) 将离心管置于磁分离装置上，直至溶液变澄清。

d) 小心地吸弃上清，特别注意此时不能造成磁珠的损失，否则会造成回收效率下降。

4. 洗涤

移除上清后，加入 200ul 70%-80%的乙醇，轻柔地吹吸混匀 5 次室温孵育 5 分钟，然后除去乙醇。重复此步骤1 次。注意：洗涤之后，尽可能地除尽乙醇，残留的乙醇可能会影响下游的实验。可将离心管置于磁分离器上开盖室温

晾干，但注意不要使磁珠过于干燥，以免影响洗脱效率。

5. 洗脱

a) 除尽乙醇后，加入 20ul 洗脱液（洗脱液体积可调整），轻柔吹吸混匀 5 次。

b) 将离心管置于磁分离器上，静置 1 分钟，溶液澄清后小心地将上清转移至新的离心管中，所需目的 DNA 片段即存在于溶液中。

注意：加入洗脱液之后 DNA 可快速完全地从磁珠上洗脱下来，不需要进行二次洗脱。洗脱液最小体积为 20ul，

可根据实验需要进行调整。需注意，洗脱体积小于 40ul 时要保证所有磁珠能够充分与液体接触，避免影响洗脱效率。

常见问题及参考意见

常见问题	可能的原因	建议
得率低	结合不充分	结合过程中要使磁珠充分与液体接触
	操作过程中磁珠损失	在操作过程中尽量避免磁珠的损失，在磁分离之前短暂离心收集液体
	洗脱体积过少	可适当增加洗脱液的体积