DNA 片段筛选试剂(磁珠法)

BeaverBeadsTM DNA Select Isolation

产品简介

BeaverBeads™ DNA Select Isolation 采用超顺磁性微珠,配合优化的缓冲液体系,在特定比例的磁珠悬液中,将不同分子量的核酸片段回收,整个操作过程方便快速,其回收的核酸片段可用于二代测序平台的文库构建。本产品适合于回收 150bp-3000bp 长度的 DNA,可手工实验操作,也可应用在基于自动化移液工作站的高通量实验操作。

产品信息

产品信息	70407-5	70407-60	70407-450	备注
DNA 片段筛选试剂 (磁珠法)	5 mL	60 mL	450 mL	2~8℃可保存 18 个月, 防止冷冻。

操作流程

使用前准备试剂和磁性分离器:

- ▶ 80%(v/v)乙醇溶液(最好使用新鲜配置的)
- ➤ 10 mM Tris-HCl, pH 8.0
- ▶ 超纯水
- ➤ 1 mM EDTA
- ▶ 漩涡振荡器
- ▶ 磁性分离器:可选用海狸96孔磁性分离器,货号:60303

注: DNA 样本体积需≥50 µ L。过小的体积会降低移液的准确度,从而影响筛洗范围的准确度。

操作步骤

1.左侧片段筛选

用于回收分子量大于筛分界限的核酸片段,在该操作流程中,随着磁珠悬液与样本比率的增大,小 片段核酸的结合效率会逐渐增大。

1.1 结合: 将 50 μL 样本加入到合适的离心管中,再根据图 1 加入特定体积的**磁珠悬液**,移液器吹打混匀 10 次或涡旋 30s,室温静置 5min;将离心管置于磁性分离器上至溶液变澄清,用移液器吸去上清。

备注: 样本量×比率=磁珠悬液加入量,如 50 μL 样本×0.6=30 μL 磁珠悬液。

1.2 洗涤: 保持离心管于磁性分离器上,加入 200 μL 80%乙醇,室温静置 30 s 后,用移液器吸去上清;重复该步骤一次。

备注: 最后一次洗涤后应尽可能移除干净洗涤液。

1.3 干燥:保持离心管于磁性分离器上,风干至磁珠表面无明显光泽。

备注: 该步骤应避免磁珠干燥过度而影响洗脱效率。表面有裂纹即代表干燥过度。

1.4 洗脱: 向离心管中加入 30~40 μL 超纯水、10 mM Tris-HCl 或 TE, 用移液器反复吹打 10 次, 使磁珠与溶液充分混匀,将反应管于室温静置 3~5 min。再将离心管置于磁性分离器至溶液变澄清,将上清液转移至新的离心管中,可直接用于后续研究或者置于-20℃冰箱长期保存。

备注: 用户可以根据实验需要调整洗脱液体积, 但不低于 20 μL

2.右侧片段筛选

用于回收分子量小于筛分界限的核酸片段,在该操作流程中,随着磁珠悬液与样本比率的增大,大片段核酸的结合效率会逐渐降低,如图1右侧所示:

2.1 一次结合: 将 50 μ L 样本加入到合适的离心管中(**编号**A),再根据图 1 加入特定体积的**磁珠悬液**,移液器吹打混匀 10 次或涡旋 30s,室温静置 5min;将离心管置于磁性分离器上至溶液变澄清,用移液器将上清转移至另一个新的离心管中(**编号**B),弃去磁珠。

备注: 样本量×比率=磁珠悬液加入量,如 50 μL 样本×0.6=30 μL 磁珠悬液。

2.2 二次结合:在上述离心管 B 中加入指定量(**见备注**)的磁珠悬液,漩涡震荡混匀后于室温下静置 5 min;将离心管置于磁性分离器上至溶液变澄清,用移液器吸去上清。

备注: 样本量×(1.8-比率)=磁珠悬液加入量,如 50 uL 样本×(1.8-0.6)=60 uL 磁珠悬液。

2.3 洗涤: 保持离心管 B 于磁性分离器上,加入 200μL 80%乙醇,室温下静置 30 s 后,用移液器吸去上清; 重复该步骤一次。

备注: 最后一次洗涤后应尽可能除尽洗涤液。

www.beaverbio.com

2.4 干燥: 保持离心管 B 于磁性分离器上, 风干至磁珠表面无明显光泽。

备注: 该步骤应避免磁珠干燥过度而影响洗脱效率。

2.5 洗脱: 向离心管 B 中加入 30 ~40 μL 超纯水、10 mM Tris-HCl 或 TE, 用移液器反复吹打 10 次, 使磁珠与溶液充分混匀, 将反应管于室温静置 3~5 min, 再将离心管置于磁性分离器至溶液变澄清, 将上清液转移至新的离心管中, 可直接用于后续研究或者置于-20℃冰箱长期保存。

备注: 用户可以根据实验需要调整洗脱液体积, 但不低于 20 μL

3.两侧片段筛选

用于回收分子量处于特定范围的核酸片段,在该操作流程中,可通过调整磁珠悬液与样本比率在左右两侧的变化(左侧片段筛选比率总大于右侧片段筛选比率),来控制反应体系对某一范围内的核酸片段的回收

3.1 一次结合:将 50 μ L 样本加入合适的离心管(**编号**A)中,再根据图 1 的右侧片段筛选比率加入特定体积的**磁珠悬液**,漩涡震荡混匀后于室温下静置 5 \min ;将离心管置于磁性分离器上至溶液变澄清,用移液器将上清转移至另一个新的离心管中(**编号**B),弃去磁珠。

备注: 样本量×右侧片段筛选比率=磁珠悬液加入量,如 50 μL 样本×0.61=30.5 μL 磁珠悬液。

3.2 二次结合:根据图 1 的左侧片段筛选比率,在上述离心管 B 中加入特定量(**见备注**)的**磁珠悬液**,漩涡震荡混匀后室温下静置 5 min;将离心管置于磁性分离器上至溶液澄清,用移液器吸去上清。

备注: 样本量×(左侧片段筛选比率-右侧片段筛选比率)=磁珠悬液加入量,如 50 μL 样本×(0.8-0.61)=9.5 μL 磁珠悬液。

3.3 洗涤: 保持离心管 B 于磁性分离器上,加入 200 μ L 80%(v/v)乙醇,室温静置 30 s 后,用移液器吸去上清; 重复该步骤一次。

备注: 最后一次洗涤后应尽可能除尽洗涤液。

3.4 干燥:保持离心管 B 于磁性分离器上,风干至磁珠表面无明显光泽。

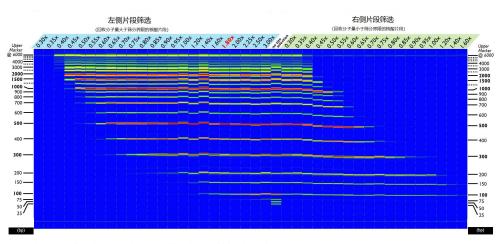
备注: 该步骤应避免磁珠干燥过度而影响洗脱效率。

3.5 洗脱: 向离心管 B 中加入 30~40 μL 超纯水、10 mM Tris-HCl 或 TE,用移液器反复吹打 10 次,使磁珠与溶液充分混匀,将反应管于室温静置 3~5 min,再将离心管置于磁性分离器至溶液变澄清,将上清液转移至新的离心管中,可直接用于后续研究或者置于-20℃冰箱长期保存。

备注: 用户可以根据实验需要调整洗脱液体积, 但不低于 20 μL。

FOR LIFE SCIENCES

图 1: DNA 片段筛选结果



注:图左为左侧片段筛选结果,图右为右侧片段筛选结果。(样本溶在TE中)

注意事项

- 1. 操作之前,请务必认真阅读本产品说明书。
- 2. 磁珠悬液在保存过程中应避免冷冻、离心等操作。
- 3. 建议使用质量好的移液器吸头和反应管,避免因粘附磁珠及溶液而造成损失。
- 4. 从磁珠保存管中移取磁珠前应充分震荡重悬均匀。
- 5. 磁珠洗脱前应彻底去除洗涤液,避免残留乙醇影响 DNA 洗脱效率。
- 6. 请勿长时间干燥磁珠,以免引起不可逆的磁珠聚集以及降低核酸洗脱效率。
- 7. 样品中含有其他盐离子、PEG等成分,会影响最终片段筛选大小。如按建议筛选比率,需是不含影响筛选成分的,例如溶解在超纯水、Tris、TE等。其他溶液,可根据具体情况进行筛选比率的调整。
- 8. 本产品仅供研究使用。

表 1 筛洗的核酸片段大小与磁珠加入量的比率

PA - NAICHADIA	ALCHA MAN, 1 MAN					
筛选片段	と 平均大小	300 bp	350bp	400 bp	500 bp	600 bp
磁珠用量	第一次	0.80×	0.70×	0.60×	0.55×	0.50×
10以坏用里	第二次	0.20×	0.20×	0.20×	0.15×	0.15×

产品列表

货号	产品名称	包装规格
70407-5	DNA 片段筛选试剂(磁珠法)	5 mL
70407-60	(BeaverBeads TM DNA Select Isolation)	60 mL
70407-450		450 mL

有限使用商标许可

苏州海狸生物医学工程有限公司声明对其开发的或者与其他单位合作开发的所有内容和服务拥有或者与合作者共同拥有全部知识产权,受有关商标权、专利、版权等知识产权法律的保护。本产品的购买者享有的权利仅限于对所购买数量的本产品进行内部研究使用,并且该权利不可转让,亦不可用于任何商业应用,购买者无权对该产品或其任何一部分进行重新销售。如出于商业用途的使用(包括但不限于代理销售),则必须经过苏州海狸生物医学工程有限公司的书面许可,并在使用时注明来源和知识产权、版权等系苏州海狸生物医学工程有限公司所有的标记。如需获得其它权限信息,请联系 Beaver@beaverbio.com,或者苏州海狸生物医学工程有限公司地址;苏州工业园区华云路 1号杂田岛科创园 B区 4号楼,邮编 215123。

本产品由苏州海狸生物医学工程有限公司生产。

www.beaverbio.com

版权声明:

©2013 苏州海狸生物医学工程有限公司保留所有权利。本《用户手册》所呈现的任何内容,无论商标、设计、文字、图像和任何其他信息。未经特殊说明, 其著作权均属苏州海狸生物医学工程有限公司所有。对于违反国家有关法律法规,不尊重本声明,不经同意,擅自使用本《用户手册》内容并不注明出处的行为, 本公司保留采取法律措施。追究其责任的权力。

需要支持,请访问: www.beaverbio.com/support或电子邮件: Service@beaverbio.com

FOR LIFE SCIENCES