

DNA 片段筛选

DNA Select Isolation



产品货号： M7415S, M7415M, M7415L, M7415XL

产品规格： 1 mL, 5 mL, 60 mL, 450 mL

储存条件： 在 2~8°C 下保存，有效期见外包装

产品介绍

本品采用超顺磁性微珠，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，整个过程方便快捷，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 150 bp~3000 bp 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。

实验步骤

一. 使用前准备

1. 80%(v/v)乙醇溶液（最好使用新鲜配置的）
2. 10 mM Tris-HCl, pH 8.0
3. 超纯水
4. 1 mM EDTA
5. 漩涡振荡器
6. 磁性分离器：可选用 UE 磁性分离器，货号：M7429

注：DNA 样本体积需 $\geq 50 \mu\text{L}$ 。过小的体积会降低移液的准确度，从而影响筛选范围的准确度。

二. 操作步骤

提前半小时将 DNA 片段筛选试剂从 4°C 取出，使其温度平衡至室温。

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) 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 30 s，室温静置 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。

注：样本量 \times 比率 = 磁珠悬液加入量，如 50 μL 样本 $\times 0.6 = 30 \mu\text{L}$ 磁珠悬液。

(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。

注：最后一次洗涤后应尽可能移除干净洗涤液。

(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。

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。



UElandy Inc.

Tel:0512-88965152

Web:www.uelandy.com

(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°C 冰箱长期保存。

注：用户可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：

(1) 一次结合：将 50 μL 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 30 s，室温静置 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。

注：样本量 \times 比率=磁珠悬液加入量，如 50 μL 样本 \times 0.6=30 μL 磁珠悬液。

(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。

注：样本量 \times (1.8-比率)=磁珠悬液加入量，如 50 μL 样本 \times (1.8-0.6)=60 μL 磁珠悬液。

(3) 洗涤：保持离心管 B 于磁性分离器上，加入 200 μL 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。

注：最后一次洗涤后应尽可能除尽洗涤液。

(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。

注：该步骤应避免磁珠干燥过度而影响洗脱效率。

(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°C 冰箱长期保存。

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。

(1) 一次结合：将 50 μL 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。

注：样本量 \times 右侧片段筛选比率=磁珠悬液加入量，如 50 μL 样本 \times 0.60=30 μL 磁珠悬液。

(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。

注：样本量 \times (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 \times (0.80-0.60)=10 μL 磁珠悬液。

(3) 洗涤：保持离心管 B 于磁性分离器上，加入 200 μL 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。



注：最后一次洗涤后应尽可能除尽洗涤液。

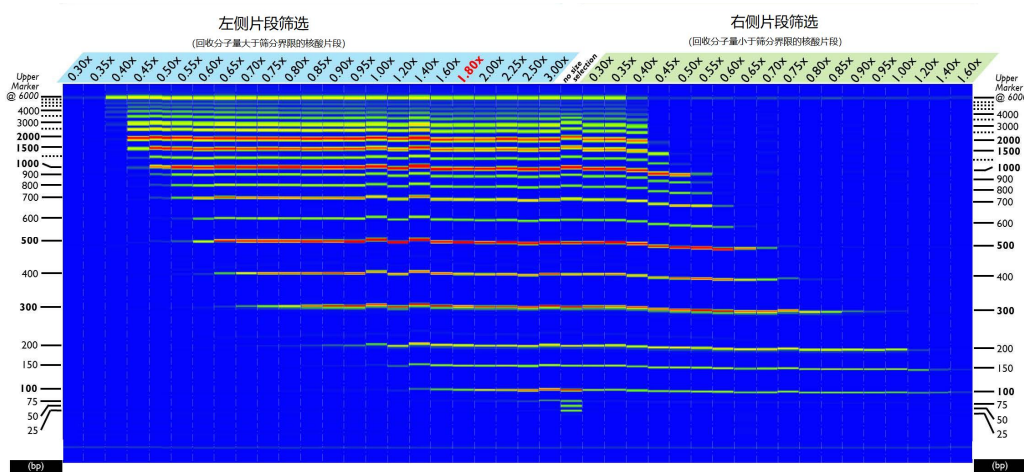
(4) 干燥：保持离心管 B 于磁性分离器上，风干至磁珠表面无明显光泽。

注：该步骤应避免磁珠干燥过度而影响洗脱效率。

(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°C 冰箱长期保存。

注：用户可以根据实验需要调整洗脱液体积，但不低于 20 μL 。

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. 筛选的核酸片段大小与磁珠加入量的比率

筛选片段平均大小		250 bp	350 bp	400 bp	500 bp	600 bp
磁珠用量	第一次	0.80×	0.70×	0.60×	0.55×	0.50×
	第二次	0.20×	0.20×	0.20×	0.15×	0.15×



UElandy Inc.
Tel:0512-88965152
Web:www.uelandy.com