

Code No. TCH049/TCH050/TCH051

研究用

Takara

MagBEST DNA Select and Clean-up

(DNA 纯化分选磁珠)

说明书

目 录

内 容	页 码
● 制品说明	1
● 制品内容	1
● 保 存	1
● 实验前的准备	1
● PCR 产物纯化	1
● 单向 DNA 分选	3
● 双向 DNA 分选	3
● Troubleshooting	5

● 制品说明

MagBEST DNA Select and Clean-up (DNA 纯化分选磁珠) 为表面经过化学基团修饰超顺磁性磁珠, 可以使核酸分子在一定条件下结合到磁珠表面。通过固相可逆固定技术 (SPRI: Solid Phase Reversible Immobilization), 在外加磁场作用下, 使结合了核酸的磁珠与溶液中的其他杂质分离, 再通过清洗、洗脱等步骤, 达到纯化核酸的目的。当改变磁珠的添加比例时, 磁珠结合不同大小核酸的能力也发生改变。本制品可用于 PCR 产物等酶反应液的 DNA 纯化和不同长度 DNA 片段的分选。本制品的纯化产物可直接用于 PCR、克隆、测序、NGS 建库*等下游实验。

*: 本制品应用于 NGS 建库时, 操作方法、试剂用量以及建库质量与主流产品一致。

● 制品内容

	TCH049	TCH050	TCH051
MagBEST DNA 纯化分选磁珠	5 ml	5 ml x 6	1 ml

● 保存

4°C。

注意: 请避免冻结, 冻结会使本试剂性能下降。

● 实验前的准备

1. 本试剂外所需的试剂、耗材、设备:
 - ◆ 新配置的 80%乙醇
 - ◆ Elution Buffer: 可选择 Nuclease Free Water、10 mM Tris HCl (pH8.0) 或 TE Buffer(pH 8.0)
 - ◆ tube: 如离心管、PCR 反应管
 - ◆ 移液器和吸头
 - ◆ 涡旋混合仪
 - ◆ 桌面离心机
 - ◆ 磁性分离器 (磁力架)
2. 实验开始前, 应至少提前 30 分钟将本试剂从 4°C 转移至室温。
3. 使用本试剂前, 应充分涡旋至少 1 分钟, 使磁珠充分悬浮。

● PCR 产物纯化

本操作适用于纯化 PCR 产物 DNA, 去除 PCR 反应液样品中的其他反应组分 (比如核苷酸、引物、接头、酶、缓冲添加剂、盐)。

1. 充分涡旋振荡 MagBEST DNA 纯化分选磁珠至少 20 秒, 使磁珠混合均匀, 颜色均一。
2. 向样品管中加入 1.8X 体积的磁珠, 样品与磁珠的体积可参见表 1。

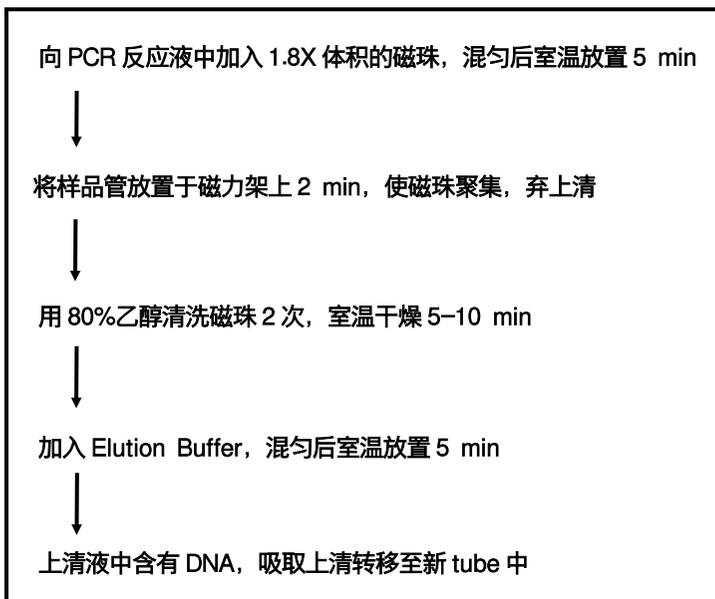
表 1 PCR 产物样品体积与磁珠建议加量

样品的体积	DNA 纯化分选磁珠的体积
10 μ l	18 μ l
20 μ l	36 μ l
50 μ l	90 μ l
100 μ l	180 μ l

3. 充分混匀样品和磁珠, 可以使用涡旋混合仪振荡 10-20 秒, 或使用量程略小于液体体积的移液器

- 吸打 10 次。
4. 将样品管放置室温孵育 5 分钟使 DNA 与磁珠结合，然后使用桌面离心机短暂离心，收集可能溅到管壁上的样品。
 5. 将样品管放置到磁力架上至少 2 分钟，使液体完全澄清。
 6. 用移液器小心吸取并去除全部上清。
注意：去除上清时，请保持样品管放在磁力架上，避免枪头触碰磁珠团。
 7. 向样品管中加入 200 μl 80%乙醇，放置 30 秒后，用移液器小心吸取并去除全部上清。
注意：如果样品与磁珠的液体总体积大于 200 μl ，则加入 500 μl 80%乙醇。
 8. 重复一次“步骤 7”的操作，尽量去除全部 80%乙醇。
 9. 打开样品管盖，室温自然干燥 5-10 分钟，至磁珠团表面没有反光。
注意：干燥所需时间受环境和样品体积影响而有所不同，首次实验时请注意观察，避免干燥不完全造成乙醇残留而影响下游实验；也要避免过度干燥至磁珠团干裂而导致长片段溶出困难。
 10. 磁珠干燥后，立即加入 10 μl -50 μl Elution Buffer，将样品管从磁力架上取下，并使用量程略小于液体体积的移液器吸打 10 次。
 11. 将样品管放置室温孵育 5 分钟后，使用桌面离心机短暂离心，收集可能溅到管壁上的样品。
 12. 将样品管放到磁力架上 1-2 分钟，至液体完全澄清。
 13. 用移液器吸取上清，并转移到新 tube 中。

◆ PCR 产物纯化简易流程



● 单向 DNA 分选

- ◆ 本操作适用于在 NGS 建库等实验中，从不同长度的 DNA 片段混合物中去除比目的片段短的 DNA，得到长片段 DNA。
- ◆ 除磁珠添加比例不同，其余操作方法与“PCR 产物纯化”相同。
- ◆ 添加磁珠与样品的体积比需要根据回收目的片段长度调整，具体请参见表 2。

注意：磁珠的添加量对 DNA 分选效果影响明显，取用前请确认磁珠已经混匀，并缓慢准确地取用磁珠。

表 2 不同磁珠加量时 100–1500 bp 长度 DNA 回收率 (%) 对照表

DNA 长度	0.5X	0.55X	0.6X	0.65X	0.7X	0.75X	0.8X	0.85X	0.9X	0.95X	1X
100 bp	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	2%
150 bp	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	2%	4%	4%	7%
200 bp	0%	0%	0%	0%	3%	5%	6%	12%	20%	28%	40%
300 bp	0%	0%	2%	4%	15%	35%	44%	77%	87%	82%	94%
400 bp	0%	2%	9%	14%	62%	91%	88%	102%	95%	86%	97%
500 bp	3%	9%	34%	48%	95%	98%	86%	98%	87%	78%	96%
600 bp	5%	20%	63%	81%	94%	101%	90%	99%	91%	82%	96%
700 bp	8%	43%	84%	99%	98%	104%	95%	112%	98%	90%	98%
800 bp	15%	66%	83%	100%	94%	101%	92%	101%	92%	84%	94%
900 bp	29%	80%	88%	103%	96%	102%	92%	108%	94%	85%	96%
1000 bp	46%	88%	95%	105%	98%	103%	94%	114%	96%	87%	99%
1500 bp	88%	89%	90%	104%	95%	102%	94%	106%	94%	86%	96%

● 双向 DNA 分选

- ◆ 本操作适用于在 NGS 建库等实验中，从不同长度的 DNA 片段混合物中去除比目的片段长的 DNA，再去除比目的片段短的 DNA，得到目的长度范围的 DNA。
- ◆ 双向 DNA 分选可根据实验所需目的片段长度，参考表 2 酌情调整磁珠加量，如有使用其他主流品牌（如 Beckman AMPure XP、GE Sera Mag）磁珠产品分选 DNA 的经验，替换使用本产品时，直接按原磁珠添加比例使用。表 3 所示是常用双向 DNA 分选范围对应的推荐磁珠用量：

表 3 双向 DNA 分选推荐磁珠加量

分选范围	250 bp	250–350 bp	350–450 bp	450–550 bp	550–650 bp	650–750 bp
第一轮磁珠用量	0.8X	0.7X	0.6X	0.55X	0.5X	0.45X
第二轮磁珠用量	0.2X	0.2X	0.2X	0.15X	0.15X	0.15X

◆ 双向 DNA 分选实验操作例：

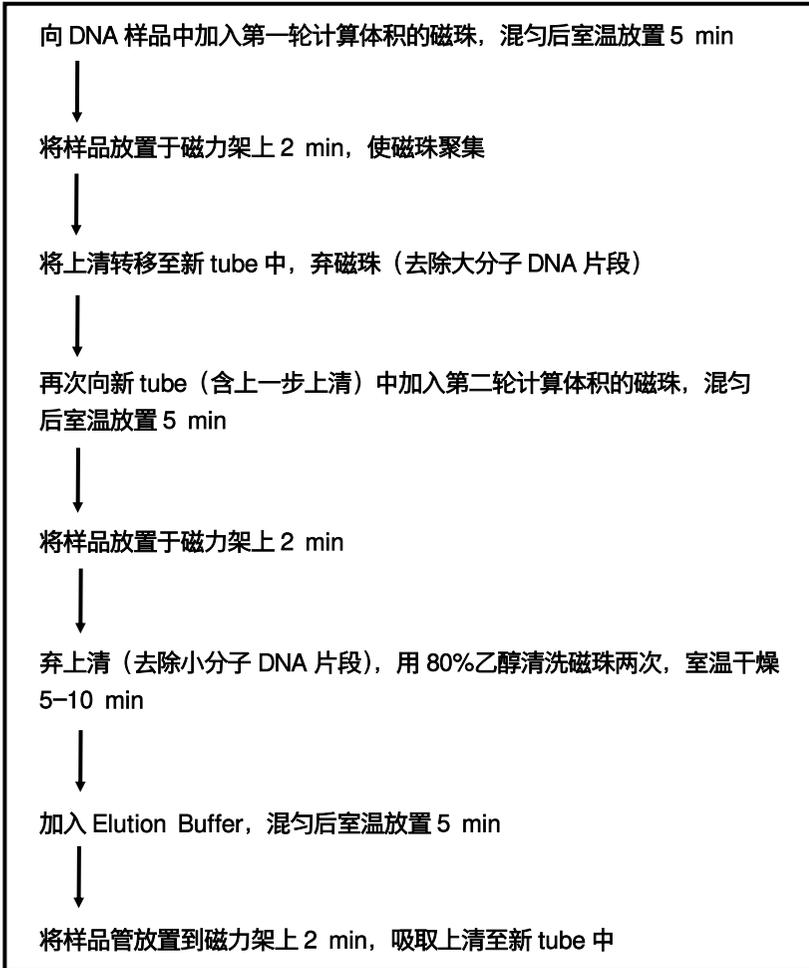
以 50 μ l 片段化的基因组 DNA 为样品，双向分选目的范围为 250–350 bp 的 DNA 片段，计算的磁珠用量请见下表：

	样品量	第一轮 去除大片段的磁珠加量	第二轮 去除小片段的磁珠加量
比例	1X	0.7X	0.2X
体积	50 μ l	35 μ l (=50 μ l*0.7)	10 μ l (=50 μ l*0.2)

注意：磁珠的添加量对 DNA 分选效果影响明显，取用前请确认磁珠已经混匀，并缓慢准确地取用磁珠。

1. 充分涡旋振荡 MagBEST DNA 纯化分选磁珠至少 10 秒，使磁珠混合均匀，颜色均一。
2. 向 50 μl 样品中加入 35 μl 的磁珠。
3. 充分混匀样品和磁珠，可以使用振荡器振荡 10–20 秒，或使用量程略小于液体体积的移液器吸打 10 次。
4. 将样品管放置室温孵育 5 分钟使 DNA 与磁珠结合。然后使用桌面离心机短暂离心，收集可能溅到管壁上的样品。
5. 将样品管放置在磁力架上至少 2 分钟，至液体完全澄清。
6. 用移液器小心吸取全部上清，并转移到新的 tube 中，弃磁珠。
注意：此时，大片段结合在磁珠上，目的长度的 DNA 片段和更短的 DNA 片段游离在上清中。请保留上清，弃磁珠以去除大片段。吸取上清时，请注意避免取到磁珠。
7. 向步骤 6 的上清样品中加入 10 μl 磁珠。
8. 充分混匀样品和磁珠，可以使用振荡器振荡 10–20 秒，或使用量程略小于液体体积的移液器吸打 10 次。
9. 将样品管放置室温孵育 5 分钟使 DNA 与磁珠结合。然后使用桌面离心机短暂离心，收集可能溅到管壁上的样品。
10. 将样品管放置到磁力架上至少 2 分钟，至液体完全澄清。
11. 用移液器小心吸取并去除全部上清。
注意：此时，目的长度的片段结合在磁珠上，短片段 DNA 游离在上清中。请保留磁珠，弃上清以去除小片段。吸取上清时，请注意避免取到磁珠。
12. 向样品中加入 200 μl 80%乙醇，放置 30 秒后，用移液器小心吸取并去除全部上清。
注意：如果样品与磁珠的液体总体积大于 200 μl ，则加入 500 μl 80%乙醇。
13. 重复一次“步骤 12”的操作，尽量去除全部 80%乙醇。
14. 打开样品管盖，室温干燥 5–10 分钟，至磁珠团表面没有反光。
注意：干燥所需时间受环境和样品体积影响而有所不同，首次实验时请注意观察，避免干燥不完全造成乙醇残留而影响下游实验；也要避免过度干燥至磁珠团干裂而导致长片段溶出困难。
15. 磁珠干燥后，立即加入 10 μl –50 μl Elution Buffer，将样品管从磁力架上取下，并使用量程略小于与液体体积相同的移液器吸打 10 次。
16. 将样品管放置室温孵育 5 分钟后，使用桌面离心机短暂离心，收集可能溅到管壁上的样品。
17. 将样品管放到磁力架上 1–2 分钟，至液体完全澄清。
18. 用移液器吸取上清，并转移到新 tube 中。

◆ 双向 DNA 分选简易流程



● Troubleshooting

1. 产物收量低怎么办？

- ① 清洗磁珠时，乙醇浓度过低会导致过多 DNA 产物被清洗掉。请使用新鲜配制的 80%乙醇，由于乙醇易挥发和吸收空气中水分的性质，配制时间过长或多次使用的乙醇浓度会降低。
- ② 溶出液体积过少会导致 DNA 产物溶出不充分，降低收量。在溶出步骤，请确保溶出液能够重悬所有磁珠，同时需避免管壁上残留未被液体浸没的磁珠。
- ③ 溶出时间不足会降低 DNA 收量，在溶出步骤，请确保重悬磁珠后室温孵育 5 分钟。
- ④ 磁珠过度干燥可能会降低 DNA 收量。请避免过度干燥，如果磁珠干燥时发生明显干裂，在溶出步骤延长室温孵育时间至 10 分钟，有利于提高 DNA 的收量。
- ⑤ 磁珠用量不足和操作过程中的损失会降低收量。使用前，请确认磁珠已混匀；磁珠液体粘度较大，请缓慢吸取，避免吸取量不足；如用移液器吸打混匀磁珠，请丢弃移液器枪头前确认里面没有磁珠残留。

2. 回收产物中含有 Primer dimer 怎么办？

1.8X 磁珠可以去除 50 bp 以下长度的 DNA 片段，长度在 100 bp 左右的 Primer dimer 或片段较长的引物仍然能够结合到磁珠上。如需去除 100 bp 以上的片段，建议减少磁珠用量，比如尝试添加 1.5X 或 1.2X 磁珠进行纯化。

3. MagBEST DNA 纯化分选磁珠是否可以用于回收 ssDNA?
可以，MagBEST DNA 纯化分选磁珠对 dsDNA 和 ssDNA 的回收效果相当。
4. MagBEST DNA 纯化分选磁珠的产物用于下游实验时效果不好怎么办?
乙醇干燥不充分会导致产物中乙醇残留，对下游酶反应产生抑制。当进行敏感度较高的酶反应时，可以适当增加室温干燥的时间，但这样做可能会降低大分子 DNA（尤其是大于 10 kb 的 DNA 片段）收量。

注意

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经Takara Bio Inc.书面许可授权或批准，不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品，或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权，请联络我们，或访问我们网站www.takarabio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术（北京）有限公司制作，最新版本文件请参考 Takara Bio（中国）网站。为正确使用 Takara 产品，您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

技术咨询热线：

0411-87641685, 87641686
4006518761, 4006518769

TAKARA BIO INC.

URL: <https://www.takarabiomed.com.cn>