

Version 1

Code No. AG12546

AG12547

AG12548

MagSpherix DNA 磁珠

MagSpherix DNA Beads

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。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.



目录

产品概述	1
产品组成	1
保存及运输	1
实验原理及流程	1
产品优势	2
使用注意事项	2
实验前准备	2
操作方法	3
实验例	5
产品注意事项	7

➤ 产品概述

本产品采用超顺磁性磁珠，配合优化的缓冲液体系，通过改变投入的磁珠与样本的比例，可实现 100 bp ~ 1000 bp DNA 片段的分选及 50 bp ~ 30 kb 的片段回收。操作方便快捷，核酸与磁珠结合后，在外加磁场作用下能与溶液的酶、引物、盐离子等多种杂质分离，再经过洗涤、洗脱等步骤，达到纯化核酸的目的，所得的 DNA 纯度高，可应用于二代测序（NGS）、qPCR / ddPCR / PCR、基因芯片等多种分子生物学实验。

➤ 产品组成

组分名称	AG12546	AG12547	AG12548
<i>MagSpherix</i> DNA Beads	1 ml	10 ml	100 ml

➤ 保存及运输

保存温度：4°C 保存

运输温度：冰袋运输（避免冻结和干裂）

➤ 实验原理及流程

MagSpherix DNA Beads 纯化 DNA 原理如下：核酸在一定浓度的 PEG、盐离子等缓冲液条件下，大量带负电荷的磷酸基团会被暴露出来，在静电作用下，核酸会被特异性吸附到磁珠表面。再利用磁珠的超顺磁性，在外加磁场作用下，对 DNA 进行洗涤，最后洗脱获得高纯度的核酸。

DNA 纯化的目的在于去除引物、dNTPs、酶、盐离子等杂质以及不需要的引物二聚体等短片段，以获得高纯度的 DNA，过程如下图所示：

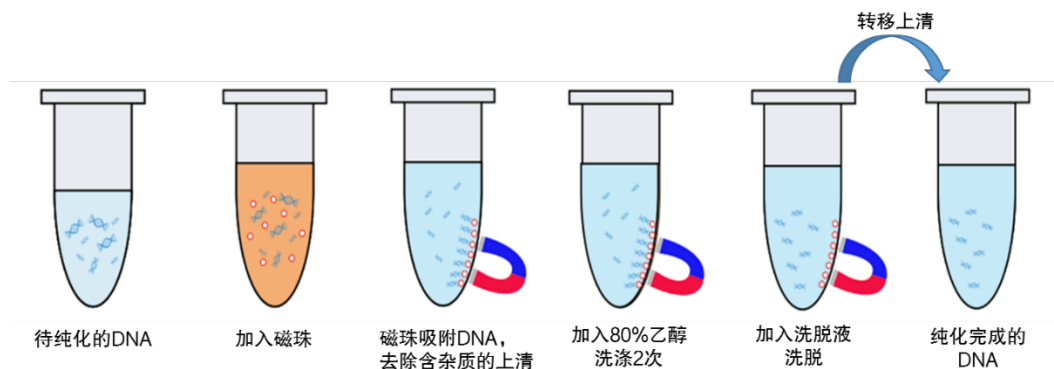


图 1：磁珠纯化流程图

片段分选的目的旨在从片段化 DNA 中选择特定大小范围内的 DNA 片段，以满足不同需求。一般会进行双轮分选：第一轮磁珠分选可去除不必要的大片段。第二轮分选可去除小于目的片段的 DNA，过程如下图所示：

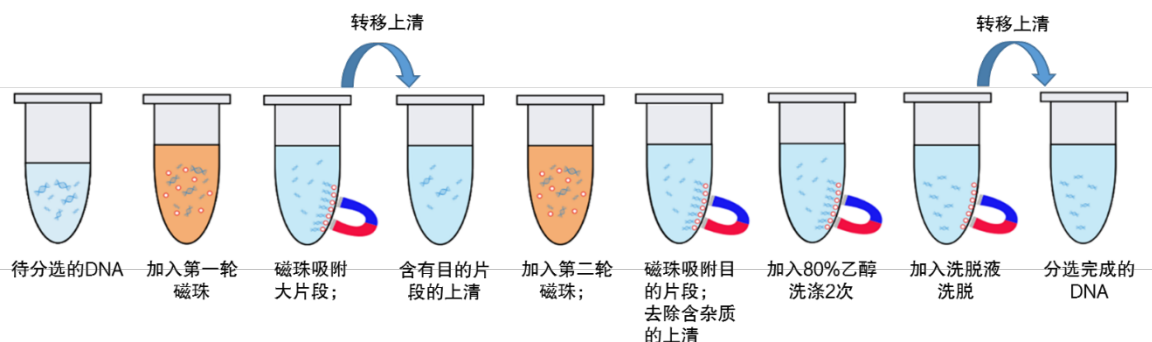


图 2：磁珠双轮分选流程图

➤ 产品优势

1. 回收效率高，能达到 90%以上，对小片段也有很好的回收效果，能回收 50 bp 以上的 DNA 片段。
2. 分选时，能够高效、精确的分选出特定大小的目的片段。
3. 适用于各种 DNA、RNA 建库过程中的纯化及文库分选。

➤ 使用注意事项

1. 磁珠建议保存在 4°C，避免冻结或者长时间高温而破坏磁珠表面基团的修饰，影响性能；不要放置于 0°C 以下（如 -20°C）或长期放置于室温，使用完后应尽快放回 4°C 保存。
2. 首次使用，建议将磁珠分装至 1.5 ml 离心管中，保存在 4°C。
3. 使用前将磁珠恢复至室温（15~25°C）（室温放置约 30 min），并充分涡旋振荡混匀（约 5 min）。
4. 磁珠静置时，磁珠会与 Buffer 分层，聚集在瓶底，使用前请先颠倒混匀，使聚集在底部的磁珠分散，再进行振荡混匀，得到均匀分布的磁珠混合液。
5. 洗涤所用的 80%乙醇溶液建议现配现用，以免影响回收效率。
6. 进行长度分选时，初始样品体积建议 $\geq 100 \mu\text{l}$ ，不足时建议用 RNase free water 补齐。避免样品体积太小导致移液误差增大，影响分选片段的准确性。

➤ 实验前准备

1. 试剂 & 耗材
 - ❖ 待纯化的 DNA 溶液；
 - ❖ 新配制的 80%乙醇溶液；

- ❖ 洗脱液：可选择 RNase free water 或 TE Buffer (10 mM Tris-Acetate pH 8.0, 1 mM EDTA);
- ❖ 0.2 ml PCR 管、1.5ml 离心管等。

2. 仪器

- ❖ 移液枪、涡旋振荡仪、小型桌面离心机、磁力架等。

➤ 操作方法

A. DNA 纯化

实验前准备：

1. 首次使用，建议将磁珠分装至 1.5 ml 离心管中，保存在 4℃。
2. 使用前将磁珠恢复至室温（15~25℃）（室温放置约 30 min），并充分涡旋振荡混匀（约 5 min）备用。
3. 实验前，可根据实验量，配制新的 80%乙醇溶液（每个样品需要 400 μl）。

操作步骤：

1. 将已恢复至室温（15~25℃）的磁珠按照一定的比例加入至 DNA 样品中（磁珠比例可参考下表 1）。轻柔涡旋 5~10 sec 或使用移液枪轻柔吸打 10 次，充分混匀后，短暂离心将管壁上的液体收集至管底。

表 1：纯化时磁珠比例推荐表

纯化所得片段大小范围	纯化磁珠比例*
≥1 kb	0.6X
≥400 bp	0.8X
≥300 bp	1.0X
≥200 bp	1.2X
≥100 bp	2.0X 以上

*注：磁珠用量均是根据 DNA 体积计算而得。如样品体积为 100 μl，要得到大于 200 bp 的文库，使用“1.2X”进行纯化，则磁珠用量：1.2X100 μl=120 μl。

2. 将磁珠 / DNA 样品在室温（15~25℃）下孵育 8 min，使 DNA 样品与磁珠结合。
3. 将样品放在磁力架上至少 5 min，直到液体完全清澈且上清液中没有磁珠。用移液枪小心吸弃上清液，注意不要打散磁珠。
4. 保持样品管始终置于磁力架上，加入 200 μl 新配制的 80% 乙醇溶液漂洗磁珠（注意加入乙醇溶液时不要干扰磁珠），室温（15~25℃）孵育 30 sec，用移液枪小心去除上清液。
5. 重复步骤 4 一次。

6. 用桌面离心机短暂离心后，将 PCR 管放在磁力架上约 30 sec，然后用 10 μ l 移液枪除去剩余的乙醇溶液。
7. 保持 PCR 管始终置于磁力架上，开盖干燥磁珠 2~ 5 min 至无乙醇溶液残留。
 无乙醇残留时，磁珠表面无光泽；如果乙醇未干燥完全，可能会影响 DNA 的洗脱效率及影响下游实验。但注意不要过分干燥磁珠，避免磁珠表面开裂，降低 DNA 洗脱效率。
8. 磁珠晾干后，将样品管从磁力架上取下，加入适量的洗脱液（RNase free water 或 TE Buffer）覆盖磁珠，使用移液枪轻柔吸打混匀，室温（15~25 $^{\circ}$ C）孵育 8 min（如果磁珠干燥开裂，适当延长孵育时间）。
9. 孵育结束后，将样品管短暂离心后置于磁力架上，分离磁珠和液体直到溶液澄清（约 5 min）。
10. 小心吸取上清转移至新的离心管中（勿吸到磁珠），即可获纯化后的 DNA，建议纯化的 DNA 溶液-20 $^{\circ}$ C 保存。

B. DNA 分选

实验前准备：

1. 首次使用，建议将磁珠分装至 1.5 ml 离心管中，保存在 4 $^{\circ}$ C。
2. 使用前将磁珠恢复至室温（15~25 $^{\circ}$ C）（室温放置约 30 min），并充分涡旋振荡混匀（约 5 min）备用。
3. 实验前，可根据实验量，配制新的 80%乙醇溶液（每个样品需要 400 μ l）。

操作步骤：


1. 根据 DNA 片段长度的要求，进行双轮分选时，需将初始 DNA 样本用 RNase free water 补齐至 100 μ l。
2. 参考下表 2 推荐比例向 DNA 溶液中加入第一轮分选磁珠，涡旋混匀 5~10 sec，或使用移液枪轻柔吸打混匀 10 次，充分混匀后，短暂离心。磁珠比例可以根据实际情况进行调整。

表 2：不同片段分选时磁珠比例推荐表

分选片段平均大小 (bp)	200~250	250~350	350~450	450~550	550~700	700~900	900~1000
第一轮体积比 (磁珠：样品)	1.0X	0.9X	0.8X	0.7X	0.65X	0.6X	0.5X
第二轮体积比 (磁珠：样品)	0.2X	0.2X	0.2X	0.2X	0.15X	0.15X	0.2X

注：磁珠用量均是依据 100 μ l DNA 产物体积计算而得，如第一轮使用“0.8 X”进行分选，磁珠用量：0.8 X 100 μ l = 80 μ l。第二轮则使用“0.2X”，磁珠用量：0.2X 100 μ l = 20 μ l。

3. 将样品在室温（15~25 $^{\circ}$ C）下孵育 8 min，使 DNA 样品与磁珠结合。

4. 将样品放在磁力架上至少 5 min，直到液体完全清澈且上清液中没有磁珠。用移液枪小心转移上清到新的离心管中。
【注：转移上清时，建议留 2~5 μ l 上清于管底，避免吸到磁珠，影响分选结果，导致有大片段的残留。】
5. 参考表 2 向上清中加入第二轮分选磁珠，涡旋混匀 5~10 sec，或使用移液枪轻柔吸打混匀 10 次，充分混匀后，短暂离心。
6. 将样品在室温下（15~25 $^{\circ}$ C）下孵育 8 min，使 DNA 样品与磁珠结合。
7. 将样品放在磁力架上至少 5 min，直到液体完全清澈且上清液中没有磁珠。用移液枪小心吸弃上清液，注意不要打散磁珠。
8. 保持样品管始终置于磁力架上，加入 200 μ l 新鲜配制的 80%乙醇溶液漂洗磁珠（注意加入乙醇溶液时不要干扰磁珠），室温（15~25 $^{\circ}$ C）孵育 30 sec，用移液枪小心去除上清液。
9. 重复步骤 8 一次。
10. 用桌面离心机短暂离心后，将 PCR 管放在磁力架上约 30 sec，然后用 10 μ l 移液枪除去剩余的乙醇溶液。
11. 保持 PCR 管始终置于磁力架上，开盖干燥磁珠 2~5 min 至无乙醇溶液残留。
 无乙醇残留时，磁珠表面无光泽；如果乙醇未干燥完全，可能会影响 DNA 的洗脱效率及影响下游实验。但注意不要过分干燥磁珠，避免磁珠表面开裂，降低 DNA 洗脱效率。
12. 磁珠晾干后，将样品管从磁力架上取下，加入适量的洗脱液（RNase free water 或 TE Buffer）覆盖磁珠，使用移液枪轻柔吸打混匀，室温（15~25 $^{\circ}$ C）孵育 8 min（如果磁珠干燥开裂，适当延长孵育时间）。
13. 孵育结束后，将样品管短暂离心后置于磁力架上，分离磁珠和液体直到溶液澄清（约 5 min）。
14. 小心吸取上清转移至新的离心管中（勿吸到磁珠），即得到分选完成的 DNA。建议分选的 DNA 溶液-20 $^{\circ}$ C保存。

➤ 实验例

1. 使用 *AccuNext* 快速 DNA 文库制备试剂盒（Illumina, 50 ng 模板量）（Code No. AG12520）构建 DNA 文库。用不同比例的 *MagSpherix* DNA Beads 对 DNA 文库进行纯化与分选，得到片段大小不同的文库，用 Agilent 2100 Bioanalyzer 进行分析，结果如下图 3 所示。

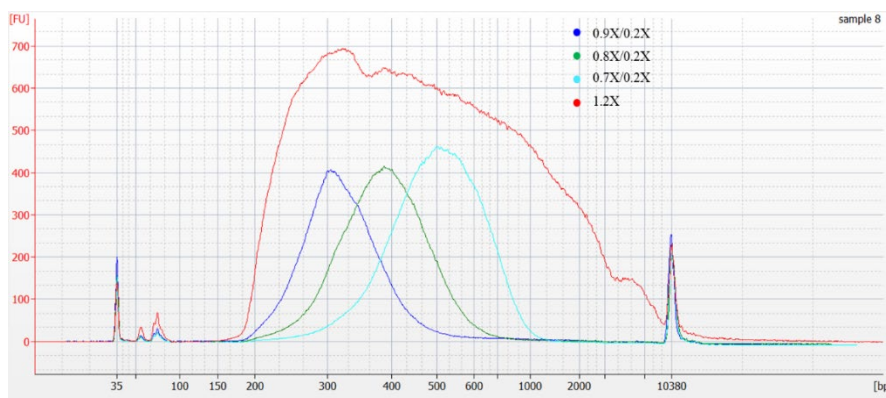
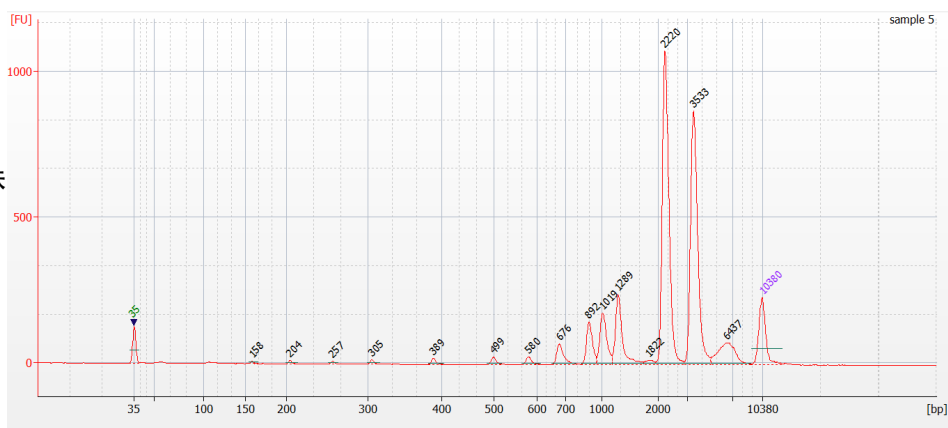


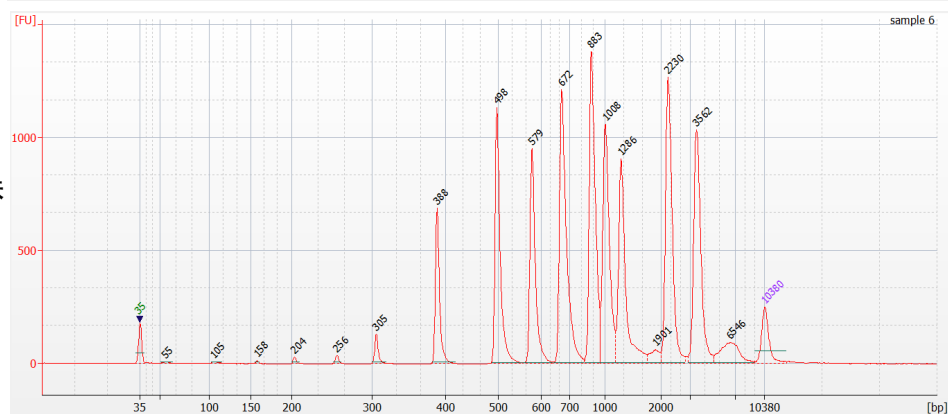
图 3. 不同比例磁珠分选的 DNA 文库的 2100 分布图

- 使用不同比例 (0.6X、0.8X、1.0X、1.2X、1.8X) 的 *MagSpherix* DNA Beads 对 50 μ l 不同大小 DNA 片段的混合液 (包含 50 bp~6.5 kb 的 DNA 片段) 进行纯化, 用 Agilent 2100 Bioanalyzer 进行分析, 结果如下图 4 所示。

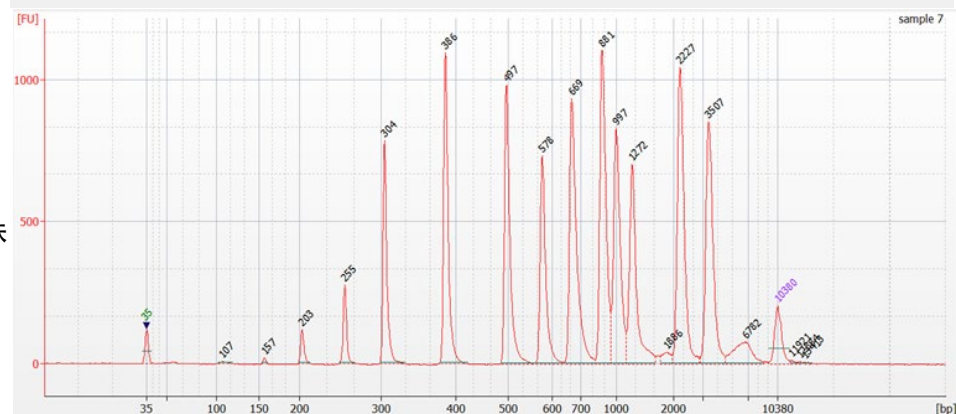
0.6X 磁珠



0.8X 磁珠



1.0X 磁珠



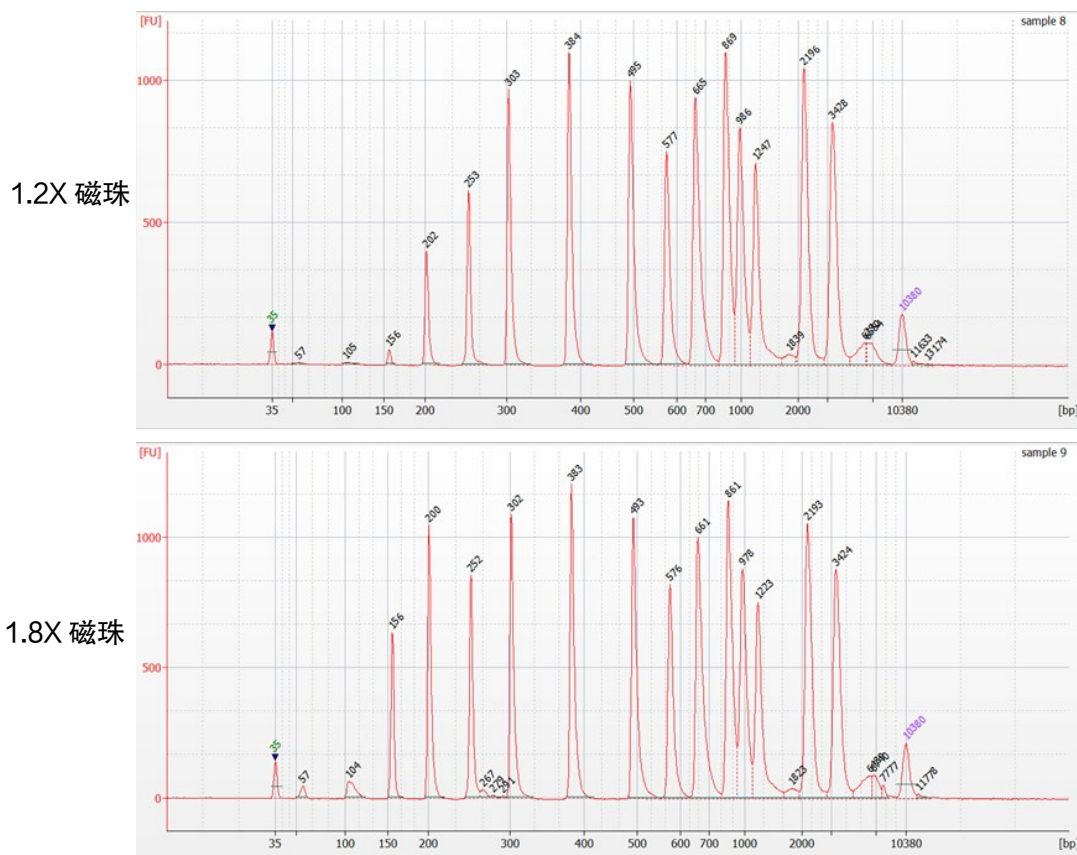


图 4. 不同磁珠比例纯化 DNA 片段的 2100 分布图

➤ 产品注意事项

1. 在使用前，应该先将磁珠恢复至室温（15~25℃），避免产物回收率下降。
2. 每次使用前建议先颠倒混匀使沉积在底部的磁珠悬浮后，再充分振荡混匀。
3. 纯化过程中使用的 80%乙醇溶液，现配现用，避免长时间保存而导致乙醇溶液挥发，降低乙醇溶液浓度。
4. 第一轮分选转移上清时，应该避免吸到磁珠，否则会出现大片段残留情况。
5. 乙醇溶液清洗完成后，应使乙醇溶液充分挥发，避免影响产物的回收率及后续应用。
6. 使用磁珠分选 / 纯化之后，可能出现接头二聚体/引物二聚体等小片段残留。要改善此类情况，纯化时，降低磁珠比例；分选时，可适当降低第二轮磁珠比例。
7. 不同的磁珠比例可纯化获得不同大小的 DNA 片段，可根据实际情况参考推荐比例进行相应调整。
8. 磁珠回收率低的原因可能是：
 - ❖ 磁珠与 DNA 混匀不充分：导致磁珠与 DNA 结合不充分，建议反应体系充分混匀；
 - ❖ 磁珠比例不合适：建议按照说明书进行选择合适的比例；

- ❖ 孵育时间不足：保证孵育时间至少 5 min；
 - ❖ 磁珠洗涤时的乙醇溶液不是现配：导致乙醇浓度过低，造成洗涤时 DNA 损失，建议乙醇浓度不低于 70%，现配现用；
 - ❖ 干燥过度：磁珠长时间干燥导致表面龟裂，DNA 难以洗脱，回收率降低，建议干燥时间不宜过长，表面无光泽即可；
 - ❖ 洗脱液体积不足：最终洗脱液应完全覆盖管内磁珠。
9. 分选 / 纯化后的 DNA 产物如需长时间保存，建议用 TE buffer 洗脱保存。
10. 本产品 4℃保存，请避免冻结，以免试剂性能下降。