

中文名: Apostle MiniEnrich™ 片段筛选磁珠使用说明书

英文名: Apostle MiniEnrich™ Size Selection Beads Manual

货号: A190606, 版本: P.02

产品描述

Apostle MiniEnrich™ 片段筛选磁珠可从不同长度的核酸混合物中筛选出特定目标长度的片段核酸, 可广泛应用于 NGS 和分子生物学领域。Apostle MiniEnrich™ 片段筛选磁珠可用于从已打断的 DNA 片段、连接上测序接头的文库或经过 PCR 扩增的文库中选取特定目标长度的片段。基于 Apostle MiniEnrich™ 特有的磁珠技术, 该试剂盒可以自定义筛选长度区间, 有针对性地去除非目标片段, 同时高效回收目标片段。

保存条件

Apostle MiniEnrich™ 片段筛选磁珠应为棕色溶液。收到产品后, 请保存在 2-8 度。使用磁珠溶液前, 应先平衡至室温并涡旋震荡以完全重悬纳米颗粒。

客户所需自备耗材试剂

可调节移液枪 (1 mL、200 μL、20 μL), 枪头

磁力架 (用于 2 mL 离心管款型)

小型台式离心机

DNase/RNase-free 低吸附离心管 (1.5 mL、15 mL)

涡旋震荡器

100%无水纯乙醇

超纯水 (无 DNase 和 RNase)

DNA 片段筛选操作步骤

本说明书提供了 DNA 片段筛选的操作指南, 用户可以根据具体应用选择所需的方法和片段截留长度。

-章节 A: 左侧片段去除, 用于回收大于截留长度的 DNA 片段

-章节 B: 右侧片段去除, 用于回收小于截留长度的 DNA 片段

-章节 C: 双侧片段去除, 用于回收大于下截留长度, 小于上截留长度的 DNA 片段

片段截留长度受磁珠溶液与样本的体积比和样本体系影响。通常, 磁珠溶液与样本的体积比越高, 磁珠能结合越小的片段。

章节 A: 左侧片段去除

1. 使用前, 将 Apostle MiniEnrich™ 片段筛选磁珠平衡至室温并涡旋震荡以完全重悬磁珠。

2. 根据所需的截留长度和样本体积, 将片段筛选磁珠加到样品中。加入磁珠溶液的体积可以根据下式算出:

$$\text{磁珠溶液体积} = \text{初始样本体积} \times \text{比例系数}$$

作为参考, 对于在 Tris-EDTA 缓冲液中的样品, 下表给出了对应不同截留长度的比例系数:

截留长度	250 bp	300 bp	400 bp	600 bp
推荐比例系数	0.9x	0.8x	0.7x	0.6x

3. 涡旋震荡溶液 5 秒, 然后室温静置 5 分钟。

4. 将 1.5 mL 离心管于台式离心机中快速离心, 将粘壁的液体甩至管底, 将该离心管置于磁力架上静置 3 分钟, 待管内溶液澄清且磁珠聚于管壁。

5. 用移液枪小心弃掉上清。

6. 将 1.5 mL 离心管从磁力架上取下, 加入 500 μL 80% 乙醇 (将无水乙醇与无 DNase、RNase 的超纯水以 4:1 的比例混合), 并充分震荡 30 秒。

7. 将 1.5 mL 离心管于台式离心机中快速离心, 将粘壁的液体甩至管底, 将该离心管置于磁力架上静置 2 分钟, 待管内溶液澄清且磁珠聚于管壁。

8. 用移液枪小心弃掉上清。

9. 重复 6-8 步操作, 对磁珠进行二次洗涤。

10. 将 1.5 mL 离心管置于磁力架上, 开盖 3 分钟室温晾干 (注意: 若环境湿度较大, 则可适当延长干燥时间, 确保乙醇完全挥发, 但无需过度干燥磁珠)。

11. 将 1.5 mL 离心管从磁力架上取下, 加入无 DNase、RNase 的超纯水洗脱 DNA。为保证洗脱效率, 推荐使用至少 20 μL 或与初始样本相同体积的超纯水。

12. 在涡旋震荡器上充分震荡 1.5 mL 离心管以使纳米磁珠重悬, 然后室温静置 5 分钟以使纳米磁珠上的 DNA 片段洗脱下来。

13. 将 1.5 mL 离心管于台式离心机中快速离心, 将粘壁液体甩至管底。并将该离心管置于磁力架上, 待管内溶液澄清且磁珠聚于管壁。

14. 使用不沾粘、不含有 DNase 和 RNase 的常规离心管收集含有 DNA 片段的上清洗脱液。DNA 片段长期保存需置于 -20°C 冷冻。

章节 B：右侧片段去除

1. 使用前，将 Apostle MiniEnrich™ 片段筛选磁珠平衡至室温并涡旋震荡以完全重悬磁珠。
2. 根据所需的截留长度和样本体积，将片段筛选磁珠加到样品中。加入磁珠溶液的体积可以根据下式算出：

$$\text{磁珠溶液体积} = \text{初始样本体积} \times \text{比例系数}$$

作为参考，对于在 Tris-EDTA 缓冲液中的样品，下表给出了对应不同截留长度的比例系数：

截留长度	250 bp	300 bp	400 bp	600 bp
推荐比例系数	0.9x	0.8x	0.7x	0.6x

3. 涡旋震荡溶液 5 秒，然后室温静置 5 分钟。
4. 将 1.5 mL 离心管于台式离心机中快速离心，将粘壁的液体甩至管底，将该离心管置于磁力架上静置 3 分钟，待管内溶液澄清且磁珠聚于管壁。
5. 用移液枪小心转移上清液至新的 1.5 mL 离心管。
6. 根据章节 B 步骤 2 中的初始比例系数，将片段筛选磁珠加到上清液中。加入磁珠溶液的体积可以根据下式算出：

$$\text{磁珠溶液体积} = (1.8 - \text{初始比例系数}) \times \text{初始样本体积}$$

7. 涡旋震荡溶液 5 秒，然后室温静置 5 分钟。
8. 将 1.5 mL 离心管于台式离心机中快速离心，将粘壁的液体甩至管底，将该离心管置于磁力架上静置 3 分钟，待管内溶液澄清且磁珠聚于管壁。
9. 用移液枪小心弃掉上清。
10. 按照章节 A 中的 6-14 步，清洗磁珠并从磁珠上洗脱小于截留长度的 DNA 片段。

章节 C：双侧片段去除

1. 使用前，将 Apostle MiniEnrich™ 片段筛选磁珠平衡至室温并涡旋震荡以完全重悬磁珠。
2. 根据所需的上截留长度和样本体积，将片段筛选磁珠加到样品中。加入磁珠溶液的体积可以根据下式算出：

$$\text{磁珠溶液体积} = \text{初始样本体积} \times \text{比例系数一}$$

作为参考，对于在 Tris-EDTA 缓冲液中的样品，下表给出了对应不同上截留长度的比例系数一：

上截留长度	250 bp	300 bp	400 bp	600 bp
推荐比例系数一	0.9x	0.8x	0.7x	0.6x

3. 涡旋震荡溶液 5 秒，然后室温静置 5 分钟。
4. 将 1.5 mL 离心管于台式离心机中快速离心，将粘壁的液体甩至管底，将该离心管置于磁力架上静置 3 分钟，待管内溶液澄清且磁珠聚于管壁。
5. 用移液枪小心转移上清液至新的 1.5 mL 离心管。
6. 根据章节 C 步骤 2 中的比例系数一，将片段筛选磁珠加到上清液中。加入磁珠溶液的体积可以根据下式算出

$$\text{磁珠溶液体积} = (\text{比例系数二} - \text{比例系数一}) \times \text{初始样本体积}$$

其中比例系数二用于决定下截留长度。

作为参考，对于在 Tris-EDTA 缓冲液中的样品，下表给出了对应不同下截留长度的比例系数二：

下截留长度	250 bp	300 bp	400 bp	600 bp
推荐比例系数二	0.9x	0.8x	0.7x	0.6x

7. 涡旋震荡溶液 5 秒，然后室温静置 5 分钟。
8. 将 1.5 mL 离心管于台式离心机中快速离心，将粘壁的液体甩至管底，将该离心管置于磁力架上静置 3 分钟，待管内溶液澄清且磁珠聚于管壁。
9. 用移液枪小心弃掉上清。
10. 按照章节 A 中的 6-14 步，清洗磁珠并从磁珠上洗脱大于下截留长度，小于上截留长度的 DNA 片段。