

xPure™ 分选磁珠

操作说明书

(Cat#MB002, Version 1.4)

欣基（杭州）生物科技有限公司
WisGen BioSciences Co., Ltd

For Research Use Only.

Not For Use in Diagnostic Procedures.

仅供科研使用

产品组成

主货号：MB002 规格：50 mL / 450 mL

组分	MB002-050	MB002-450
xPure™ SPRI Beads	50 mL	450 mL

保存与运输条件

2 ~ 8 °C保存与运输（严禁冷冻）。

产品介绍

xPure™分选磁珠是基于 SPRI（Solid phase reverse immobilization，固相载体可逆化固定）技术原理，适用于高通量测序（NGS）文库构建中 DNA 纯化与片段大小分选。本产品可以兼容市场上主流建库试剂盒的建库流程，其使用方法、文库回收率和分选片段大小与 AMPure XP Beads 基本一致，因此 xPure™分选磁珠可作为 DNA 纯化与片段大小分选的首选产品，有效地降低了实验成本。

适用范围

本产品适用于 DNA 及 RNA 文库构建。

注意事项

1. 每次使用本产品前，将 xPure™分选磁珠从 2 ~ 8°C取出，振荡或上下颠倒混匀，室温放置 30 min 后方可使用，保证 DNA 的纯化及回收率。
2. DNA 洗脱前，需要等乙醇完全挥发，再加入水溶剂洗脱 DNA。
3. 磁珠晾干时，避免干燥过度，降低 DNA 的洗脱效率。

实验前准备

1. 自备试剂

生产商#货号	产品/试剂名称	备注
*	无水乙醇（分析纯）	/
*	Nuclease-Free Water	/
*	1× TE Buffer	/

⬆ * 常规实验室供应商品牌即可

2. 自备材料

生产商#货号	仪器/耗材名称	描述
WisGen#MR-C-16	xMag™磁力架 (0.2 mL*16 孔)	或其它同类产品

实验流程

1. DNA 纯化步骤

1.1 从 2 ~ 8℃冰箱中把磁珠取出，室温平衡至少 30 min。

！ 注意：磁珠使用前，必须在室温下放置 30 min，避免影响 DNA 回收率及片段大小。

1.2 使用前，将磁珠涡旋振荡或颠倒混匀，避免因磁珠未混匀，导致纯化片段或者浓度出现较大误差。

1.3 按下表吸取不同比例（×或者倍）的 xPure™分选磁珠至 DNA 溶液中，用移液器吹打或涡旋振荡混匀 30 sec，室温静置孵育 5 min。

纯化磁珠用量（磁珠体积：DNA 体积）	DNA 纯化片段范围
0.6×	≥ 400 bp
0.8×	≥ 250 bp
1.0×	≥ 200 bp
1.2×	≥ 150 bp
1.5×	≥ 150 bp
2.0×	≥ 100 bp

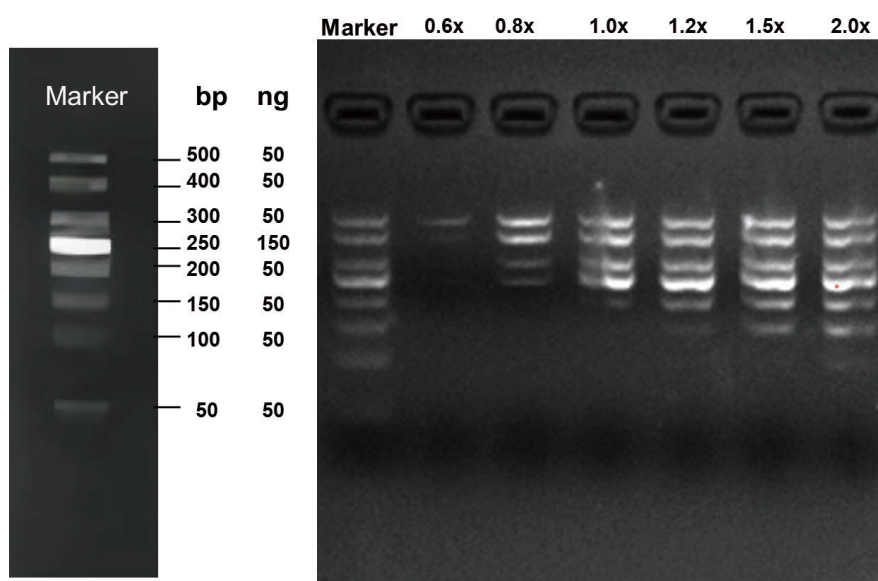


图 1. 以 50 bp DNA Marker（擎科生物，TSJ050）作为 DNA 样品，加入不同体积比的磁珠进行纯化，得到的 DNA 片段大小。

! 注意：上表和图中“×”表示样品 DNA 体积倍数。如样品 DNA 体积为 100 μL，磁珠 0.8×，则磁珠使用体积为 $0.8 \times 100 \mu\text{L} = 80 \mu\text{L}$ 。

1.4 将 PCR 管置于 0.2 mL 的磁力架，静置 2 min，待溶液完全澄清后，小心去除上清，注意不要吸到磁珠。

1.5 加入 200 μL 80%乙醇（现配现用），在 0.2 mL 的磁力架上静置 30 sec，不要吹散磁珠。

1.6 当溶液完全澄清后，用移液器小心去除上清，注意不要吸到磁珠。

1.7 重复步骤 1.5 ~ 1.6 一次。

1.8 去除上清后，可将 PCR 管瞬时离心 10 sec，放回磁力架短暂吸附后，立即用移液器将剩余液体完全去除，室温晾干 30 ~ 60 sec，待乙醇完全挥发，磁珠界面成磨砂状，无明显反光即可。

! 注意：请勿过度干燥磁珠，造成磁珠龟裂，影响洗脱效率。

1.9 向 PCR 管中加入适量 Nuclease-Free Water 或 1× TE Buffer，充分悬浮磁珠，静置 5 min。

1.10 将 PCR 管置于 0.2 mL 的磁力架上，静置 2 min，待溶液完全澄清后，用移液器小心吸取上清，转移至新的离心管中，注意不要吸到磁珠。

1.11 纯化的 DNA 文库，推荐使用 Agilent 2100 Electrophoresis Bioanalyzer® system 或其它同类产品对文库大小及峰型进行质检。质检合格后，可进行后续实验，或 -20 °C 保存。

2. DNA 筛选步骤

2.1 DNA 文库大小为 200 bp ~ 1 kb，可参考下表所示磁珠比例用量进行分选，筛选不同片段的文库。

文库平均长度 (bp)	250bp - 350bp	300bp - 400bp	400bp - 500bp	450bp - 550bp	500bp - 600bp	550bp - 650bp
第一轮磁珠比例 (磁珠体积: DNA 体积)	0.8×	0.7×	0.6×	0.55×	0.50×	0.45×
第二轮磁珠比例 (磁珠体积: DNA 体积)	0.2×	0.2×	0.2×	0.15×	0.15×	0.15×

注意：筛选磁珠比例为磁珠体积和 DNA 体积的比值，如分选 250 bp 左右文库，DNA 体积 100 μ L，则第一轮分选磁珠使用体积 $0.8 \times 100 = 80$ μ L，第二轮分选磁珠使用体积 $0.2 \times 100 = 20$ μ L。

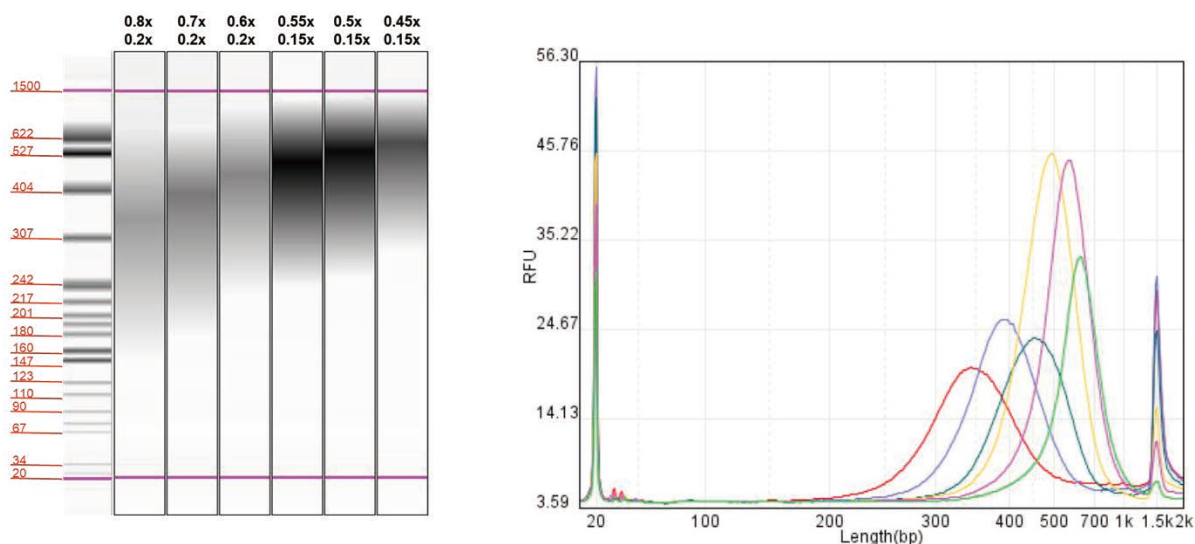


图 2. xPure™分选磁珠在不同比例筛选下的片段分析图

注意：如果 PCR 产物体积不足 100 μ L，需用 Nuclease-Free Water 补足，随后进行 DNA 片段筛选，具体步骤如下：

2.2 从 2 ~ 8°C 冰箱中把磁珠取出，室温平衡至少 30 min。

! 注意：磁珠使用前，必须在室温下放 30 min，避免影响 DNA 回收率及片段大小。

2.3 将磁珠涡旋振荡或颠倒混匀，避免因磁珠未混匀，导致纯化片段或者浓度出现较大误差。

2.4 按上表第一轮筛选比例加入相应体积磁珠至 100 μ L PCR 产物中，充分吸打混匀 30 sec，室温孵育 5 min。

2.5 将 PCR 管置于磁力架上，静置 2 min，待液体完全澄清后，用移液器小心吸取上清，并转移至另一新的 PCR 管中。

2.6 加入相应第二轮体积的磁珠，用移液器吹打混匀 30 sec，室温孵育 5 min。

2.7 将 PCR 管置于 0.2 mL 的磁力架上，静置 2 min，待液体完全澄清后，用移液器小心去除上清，注意不要吸到磁珠。

2.8 加入 200 μ L 80%乙醇（现配现用），在 0.2 mL 的磁力架上静置 30 sec，不要吹散磁珠。

2.9 当溶液完全澄清后，用移液器小心去除上清，注意不要吸到磁珠。

2.10 重复步骤 2.8 ~ 2.9 一次。

2.11 去除上清后，可将 PCR 管瞬时离心 10 sec，放回磁力架短暂吸附后，用移液器将剩余液体完全去除，室温晾干 30 ~ 60 sec，待乙醇完全挥发，磁珠界面成磨砂状，无明显反光即可。

! 注意：请勿过度干燥磁珠，造成磁珠龟裂，影响洗脱效率。

2.12 向 PCR 管中加入适量体积的 Nuclease-Free Water 或 1 \times TE Buffer，充分悬浮磁珠，静置 5 min。

2.13 将 PCR 管置于磁力架上，静置 2 min，待溶液完全澄清后，用移液器小心吸取上清，转移至新的 PCR 管中，注意不要吸到磁珠。

2.14 筛选纯化的 DNA 文库，推荐使用 Qubit® 荧光定量仪进行定量，Agilent 2100 Electrophoresis Bioanalyzer® system 或其它同类产品对文库大小及峰型进行质检。质检合格后，可进行后续实验，或 -20 °C 保存。

欣基（杭州）生物科技有限公司

WisGen BioSciences Co., Ltd

Add：浙江省杭州市钱塘区福城路 400 号 6 幢 8 层

Service：order@wisgen.cn Web：www.wisgen.cn

