



Instructions For Use

Reagent LGPure BR

DNA Purification

DNA Size Selection



Loongenomics, Inc.
4225 People Road.
Shenzhen, GD 518110 CHN



杰|洛|米
LOONGENOMICS

NGS DNA 片段磁珠分选试剂盒 Bead-based NGS DNA Size Selection Kit

【产品概述】

Bead-based NGS DNA Size Selection Kit 基于 SPRI(Solid Phase Reverse Immobilization)原理, 适合于不同应用中的 DNA 纯化步骤以及片段大小分选, 如二代测序 (NGS)、qPCR、ddPCR、PCR、基因芯片及其他酶反应, 同时兼容各品牌的 DNA, RNA 建库试剂盒和文献报道的建库流程 (如 Illumina, Oxford Nanopore Technologies、PacBio 和 Thermo Scientific), 和目前广泛使用的 AMPure XP Beads 使用方式完全相同, 文库的产量、大小分布与 AMPure XP Beads 高度一致, 因此可以无缝替代 AMPure XP Beads, 有效降低您的建库成本。

【产品规格】

货号	L0120V	L0120S	L0120M	L0120L
规格	5mL	60mL	100mL	450mL
保存	2-8℃	运输:	冰袋	

*需自行准备 80%乙醇。

【产品特点】

1. 特别优化, 专门适用于 DNA。
2. 大于 100bp DNA 片段的高回收率。
3. 高效去除残留的 dNTPs, 引物, 引物二聚体, 盐以及其他杂质。
4. 稳定且准确的片段分选。

【产品组分】

水、缓冲液、表面活性剂、防腐剂、磁性羧基微球。

【保存条件】

4-8℃ 保存, 保质期 12 个月。

【注意事项】

1. 产品应放置冰袋, 低温运输。
2. 保存时避免冷冻。

3. 其他如下图所示



【使用方法】

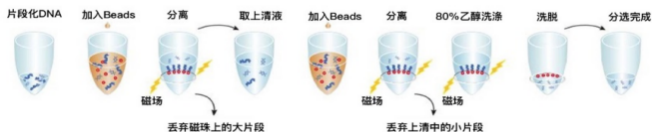
DNA 纯化

1. 将 DNA 分选磁珠从 2~8°C 取出，室温静置 30 分钟。
2. 上下颠倒或涡旋振荡使磁珠液充分混匀，吸取一定体积（具体根据样品情况而定，参考 Table 1）磁珠液加入 DNA 样品中，使用移液器轻轻吸打 10 次充分混匀。
3. 室温孵育 10 分钟，使 DNA 结合到磁珠上。
4. 将样品置于磁力架上，待溶液澄清后（约 2 分钟），小心移除上清。
5. 取下样品置于离心管架上，加入 100 μl 新鲜配制的 80% 乙醇漂洗磁珠，涡旋振荡（不超过 1000Hz）或使用移液器吹打充分混匀 10 秒，置于磁力架上，磁吸 60 秒，小心移除上清。
6. 重复步骤 5 一次（即总计漂洗二次）。
7. 保持样品始终处于磁力架上，室温下开盖干燥磁珠约 5~10 分钟（磁珠表面无泛光即干燥结束）。
8. 将样品从磁力架上取出，加入 50 μL Buffer ES（可自行调整但不低于 25 μL），涡旋振荡或使用移液器吹打充分混匀，室温静置 2 分钟。在磁力架上静置 1~2 分钟待溶液澄清后，小心吸取上清至一个新的无核酸酶离心管中。

Table1. DNA 纯化条件参考

纯化所得片段大小范围	参考纯化磁珠用量(磁珠体积用量: 样品体积)
≥1 kb	0.5 ×
≥400 bp	1.0 ×
≥300 bp	1.2 ×
≥200 bp	1.5 ×
≥100 bp	2.2 × ~ 3.0 ×

DNA 分选



1. 将 DNA 分选磁珠从 2 ~ 8℃ 取出，室温静置 30 分钟。
2. 上下颠倒或涡旋振荡使磁珠液充分混匀，按照建库试剂盒分选条件说明吸取适量体积磁珠液(第一轮分选，参考 Table 2) 的 DNA 处理样品中，使用移液器轻轻吸打 10 次充分混匀。
3. 室温孵育 10 分钟，使 DNA 结合到磁珠上。
4. 将样品置于磁力架上，待溶液澄清后(约 5 分钟)，小心吸取上清至一个新的无核酸酶离心管中。
5. 加入适量磁珠液(第二轮分选，参考 Table 2)，使用移液器吸打 10 次充分混匀。
6. 室温孵育 10 分钟，使 DNA 结合到磁珠上。
7. 将样品置于磁力架上，待溶液澄清后(约 5 分钟)，小心移除上清。
8. 将样品从磁力架上取出，加入 100 μ l 新鲜配制的 80% 乙醇漂洗磁珠，移液器反复吹打或者涡旋混匀（不超过 1000Hz）10 秒，置于磁力架上磁吸 60 秒，小心移除上清。
9. 重复步骤 8 一次（即总计漂洗二次）。
10. 保持样品始终处于磁力架上，室温下开盖干燥磁珠约 5 ~ 10 分钟（磁珠表面无泛光即干燥结束）。
11. 将样品从磁力架上取出，加入 50 μ l Buffer ES（可自行调整但不低于 25 μ l），涡旋振荡或使用移液器吹打充分混匀，室温静置 2 分钟。在磁力架上静置 1~2 分钟待溶液澄清后，小心吸取上清至一个新的无核酸酶离心管中。

Table 2. DNA 片段分选参考条件

分选片段平均长度 范围 (bp)	170 ~ 200	220 ~ 250	260 ~ 280	290 ~ 310	310 ~ 340	340 ~ 360	360 ~ 390
第一次体积比 (DNA 分选磁珠: DNA)	1	0.9	0.8	0.8	0.7	0.7	0.7
第二次体积比 (DNA 分选磁珠: DNA)	0.3	0.2	0.2	0.15	0.2	0.15	0.1
分选片段平均长度 范围 (bp)	390 ~ 420	410 ~ 440	410 ~ 450	530 ~ 570	570 ~ 600	660 ~ 700	
第一次体积比 (DNA 分选磁珠: DNA)	0.65	0.6	0.6	0.55	0.5	0.45	
第二次体积比 (DNA 分选磁珠: DNA)	0.1	0.15	0.1	0.1	0.15	0.15	

【Troubleshooting】

产量低原因	解决方案
回收率低	纯化前未结合的引物和核苷酸会影响吸光度。因此，未纯化的 PCR 反应物浓度看起来会比实际浓度高。这将导致回收率看起来比实际回收率低。在琼脂糖凝胶上检测等量未纯化 PCR 反应物和纯化 PCR 反应物，以仔细检查回收率的测量值，或使用 Picogreen dsDNA Quantitation Reagent 检测法。
磁珠丢失	如果在移除上清液的过程中将磁珠吸入吸头中，则与这些磁珠结合的核酸也会丢失。请缓慢吸液，并尽可能多地移除第一次上清液，而不要扰动磁珠。如果磁珠不小心被吸出，将所有上清液倒回孔中，让磁珠重新沉淀后再吸。低浓度样品更容易发生磁珠脱落。
片段大小不兼容	确认目标DNA 大小适用试剂盒（大于100bp）。
不恰当的混匀	在初始结合混合和洗脱混合时，充分混合至关重要。在洗脱时，需要使用合适洗脱体积（最低25ul），以确保磁珠得到充分重悬。还应保持孵育时间，以确保 DNA 有足够的时间与磁珠结合或解离。
反应体系过大	大容量反应可受益于延长的结合和分离时间。
乙醇	乙醇含量必须至少为 80%。将 100%乙醇稀释至 80%时，由于乙醇易混，应确保水和乙醇在混合前准确的浓度。用水稀释乙醇会导致浓度低于预期。随着时间的推移，库存乙醇也会从大气中吸收水分，导致浓度降低。确保库存乙醇在不使用时盖紧瓶盖。
洗脱液用量过少	洗脱体积小会导致回收率降低。这是因为总会有少量的洗脱缓冲液残留在磁珠上。
大片段 DNA 残留在磁珠上	晾干时间过长，样品变干，超过几个 kb 的片段会与磁珠紧密结合，很难洗脱下来。尽可能完全去除最后一次 80%乙醇洗，但要立即添加洗脱缓冲液并混合样品。