

iMag™片段分选试剂盒说明书

【产品组成】

产品名称	货号	规格
iMag™片段分选试剂盒	BG30301V	5 mL
	BG30301S	60 mL
	BG30301M	450 mL
	BG30301L	1 L

【产品说明】

iMag™片段分选试剂盒适用于高通量测序文库(NGS)构建中 DNA 片段大小快速分选和回收。试剂盒中的结合缓冲液中含有超顺磁珠，根据磁珠悬浮液和样品的体积比可选择性结合 DNA 片段。经过磁性分离和乙醇清洗，低盐洗脱缓冲液或无核酸酶水洗脱的高纯度的 DNA 片段可被直接用于下游应用。纯化后的核酸片段不含有核苷酸，引物，接头，酶和盐等污染物。

iMag™试剂盒是专门为配套自动化工作台开发的大规模、高通量的片段分选试剂盒，可以适用于大多数自动化仪器，也可以人工进行少量样品的片段分离。

【试剂盒组分】

iMag-MS 磁珠溶液：

DNA 结合溶液，4℃储存，切勿冷冻，使用时请将磁珠混匀。

试剂的有效期限为 1 年。

【自备仪器与试剂】

96 孔板磁力架建议 Agencourt SPRIPlate 96 Ring Super Magnet Plate

96 孔 300 μL 圆底板

新鲜配制的 80%乙醇

洗脱液 EB (10 mM Tris-HCl, PH 8.0) 或去离子水

【操作步骤】(可以结合图 1 阅读步骤，便于快速理解)

iMag™试剂盒实验操作中包括两步分选，两步分选中由于片段大小和分选目的不同，加入的磁珠量不同，下表中为推荐的磁珠比例，具体比例要根据实验情况进行进一步优化，表中 0.80×代表磁珠量为片段体积的 0.8 倍。

文库平均长度(插入片段+接头+引物)	300 bp	350 bp	400 bp	500 bp	600 bp	700 bp
第一轮分选磁珠量	0.80×	0.70×	0.60×	0.55×	0.50×	0.45×
第二轮分选磁珠量	0.20×	0.20×	0.20×	0.15×	0.15×	0.15×

表 1 片段分选磁珠比例

一、第一次磁珠分选 (去除不需要的大片段 DNA)

1. 从冰箱中取出磁珠，在室温中放置 30 min，使磁珠恢复至室温。涡旋重悬混匀 iMag™磁珠，至磁珠悬液颜色均一。参考表 1，向反应液中加入适量的磁珠溶液，吹打至少 10 次以混匀混合液，室温静置 5 min。
2. 将 96 孔板放置在磁力架上分离磁珠，静置至少 5 min，直至所有磁珠均被吸附，上清完全澄清。
3. 转移上清至新 96 孔板中，丢弃结合有大片段 DNA 的磁珠。(注意：不要丢弃上清)

二、第二次磁珠分选 (去除不需要的小片段 DNA)

1. 涡旋重悬混匀 iMag™磁珠，至磁珠悬液颜色均一。将磁珠溶液加入到反应液中 (参考表 1)，吹打至少 10 次以混匀混合液，室温静置 5 min。
2. 将 96 孔板放置在磁力架上分离磁珠，静置至少 5 min，直至所有磁珠均被吸附，

上清完全澄清。

3. 小心移除并丢弃含有不需要 DNA 的上清。(注意：不要丢弃磁珠)

三、乙醇清洗

1. 乙醇清洗步骤中，需要将 96 孔板放置在磁力架上，且勿在清洗过程中，碰触磁珠。加入 200 μL 的 80%乙醇，室温静置至少 30 s，移除并丢弃上清。
2. 重复步骤一次。

四、洗脱

1. 将 96 孔板放置在磁力架上，室温静置 5 min，挥发残留的乙醇。(注意：干燥至管底无明显液滴；勿过度干燥磁珠，防止 DNA 回收效率过低)。
2. 从磁力架上移走 96 孔板，加入 10-50 μL 的洗脱缓冲液或者纯水重悬吹打或振荡混匀磁珠，室温放置 2-5 min。
3. 将 96 孔板放置在磁力架上。溶液澄清后，转移上清至新的 96 孔板中。(注意不要转移出磁珠，以免影响下游 PCR 实验)

【注意事项】

1. 我们提供的操作步骤是去除小片段和大片段，获得中间范围内片段的过程。如果您的实验目的是去掉小片段，回收大片段或去掉大片段，回收小片段，仅需要选择合适的磁珠溶液比例操作即可。
2. 该试剂盒磁珠溶液可以用于 300 bp~800 bp 片段的回收。
3. 由于回收获得的片段的大小与磁珠溶液和样品比例有关，加样量的准确性十分重要，且样品体积尽量不要太小，减少加样误差，一般在 50 μL ~150 μL 范围。

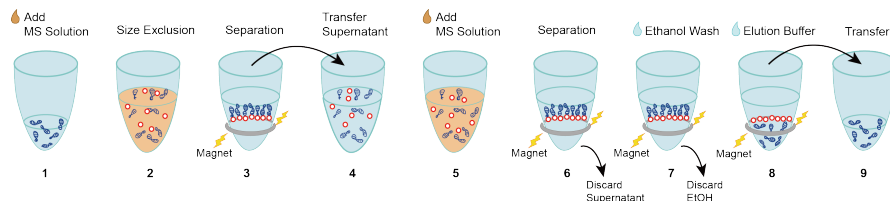


图 1 操作流程示意图