**DNA Clean Beads**

**货号：KTSM2503 - KTSM2504 - KTSM2505**

**■ 产品简介：**

 DNA Clean Beads适合于高通量测序文库构建中的DNA纯化与片段大小分选。

**■ 产品组成：**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **组分** | **KTSM2503** | **KTSM2504** | **KTSM2505** |
|  DNA Clean Beads | 5 ml | 60 ml | 450 ml |

**■ 储存条件：**

2~8℃保存

**■ 操作指南及注意事项：**

**1. 使用方式**

 DNA Clean Beads 兼容各种品牌的试剂盒，比如：Vazyme、Illumina和NEB等品牌，以及文献报道的protocol，与AMPure XP Beads (Beckman #A63881)使用方式完全相同，不需要做任何变动。目前已经验证，用 DNA Clean Beads与VAHTSTM DNA Clean Beads按照完全相同的操作方式，得到的文库在产量、大小分布上具有高度的一致性。

**2. 使用之前的注意事项**

使用时提前约半小时将 DNA Clean Beads从4℃取出，使其温度平衡至室温后使用，可保证DNA的回收率。使用前，请旋涡振荡或颠倒以保证充分混匀。

**3. 80%乙醇洗涤的注意事项**

80%乙醇洗涤时，需要保持样品管静置于磁力架上，并且不要搅动磁珠。晾干时，要避免磁珠过分干燥。如果磁珠出现龟裂，则提示磁珠过分干燥，此时DNA的洗脱效率会降低。

**4. 操作说明（以分选回收350bp DNA文库举例）**

（1）混匀磁珠结合液：将磁珠结合液震荡混匀直至颠倒瓶底无明显沉淀为止；

（2）第一次回收：取20~50 μl样本，加入0.7倍体积的磁珠结合液。（如：样本20 μl加入14 μl磁珠结合液；如样本50 μl加入35 μl磁珠结合液）充分震荡混匀后，室温静置5 min；

（3）转移上清：将（2）中的样本放在磁力架上静置2 min，溶液澄清后，将上清液转移到新的离心管内，注意不要吸到磁珠；

（4）第二次回收：在转移上清的离心管内，加0.2倍体积的磁珠结合液（如20 μl样本，则二次回收往上清中加入4 μl磁珠结合液；如50 μl样本，则二次回收往上清中加入10 μl磁珠结合液）充分震荡混匀后，室温静置5 min，将离心管置于磁力架上2 min，溶液彻底澄清后，小心移除上清，注意不要吸到磁珠；

（5）洗涤：沿离心管中未吸附磁珠的一边加入200 μl新鲜配制的80%乙醇，然后将离心管快速旋转180°，使磁珠在磁力作用下转移至离心管的另一侧。反复此操作4~5次，待溶液澄清后小心移除上清，漂洗时离心管始终置于磁力架中；

（6）重复步骤（5）一次；

（7）晾干：打开盖子，静置5~10 min晾干乙醇，离心管始终置于磁力架上；

（8）洗脱：加入20~50 μl洗脱液（10 mM Tris-HCl，pH8.0~8.5或ddH2O），轻弹管壁使磁珠重悬或者用移液枪吹打混匀，室温静置2~5 min，将离心管短暂离心并置于磁力架上静置，溶液彻底澄清后，将上清液转移到一个新的离心管内，不要吸到磁珠。

**5. 磁珠残留对Agilent 2100 Bioanalyzer结果的影响**

在用Agilent 2100 Bioanalyzer分析文库时，如在较大分子量处出现拖尾，这通常是由于纯化后的PCR产物里残留有微量的磁珠。建议在最后一步吸取上清时，用一个磁力较强的磁力架，并且尽量小心，避免搅动磁珠。

**6. 文库大小分选条件参考**

用 DNA Clean Beads按照下表的条件进行分选，得到不同分子量大小的DNA，用Agilent 2100 Bioanalyzer 进行分析，结果如下图所示：

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 第一轮体积比（Beads:DNA） | 0.8🞨 | 0.7🞨 | 0.6🞨 | 0.55🞨 | 0.5🞨 | 0.458🞨 |
| 第二轮体积比（Beads:DNA） | 0.2🞨 | 0.2🞨 | 0.2🞨 | 0.15🞨 | 0.15🞨 | 0.15🞨 |
| 分选片段长度（bp） | 300 | 350 | 400 | 500 | 600 | 700 |

