

含片段化功能的快速DNA文库制备流程 (illumina 平台)

——基因组/大片段DNA文库构建方案

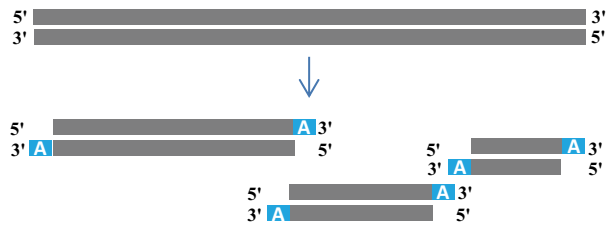
快速一站式建库方案 (Illumina平台适用)

DNA片段化	末端修复	A尾添加	接头连接	PCR富集
(所需总时间: 2.5小时)				
TIANSeq Fragmentation/End repair/dA-tailing Module (NG301-01/02)	· TIANSeq Fast Ligation Module(NG303-01/02)		· TIANSeq NGS Library Amplification Module (NG304-01/02) · TIANSeq HiFi Amplification Mix (NG219)	

Step1

DNA片段化/末端修复/添加A尾

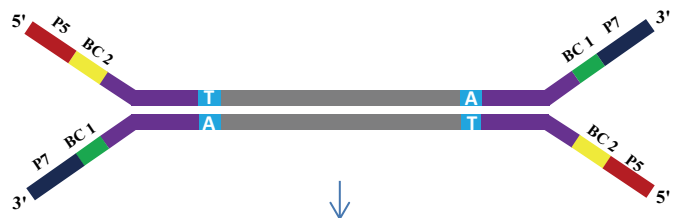
- TIANSeq Fragmentation/End repair/dA-tailing Module (NG301)可将gDNA和大片段DNA的片段化、末端修复、A尾添加反应一步完成。
- 本模块对DNA的片段化是随机进行的，不具有序列偏好性。



Step2

接头连接

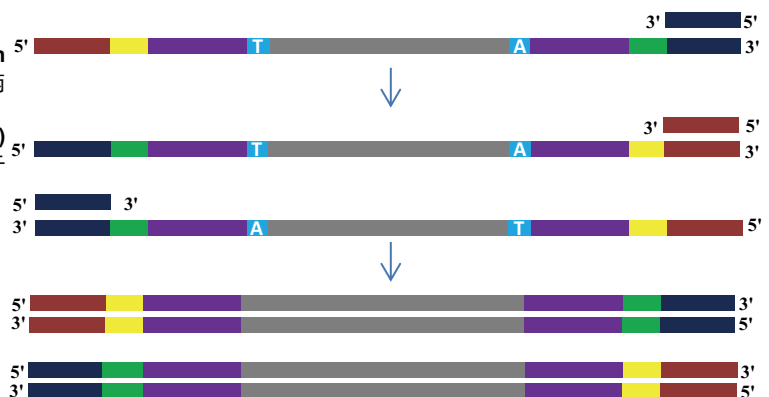
- TIANSeq Fast Ligation Module(NG303) 可将3' 端带有dA尾的DNA片段与adapter进行连接。
- 本模块采用了一步法反应流程，片段化后的DNA，无需磁珠纯化，可使用本模块直接与adapter进行连接。



Step3

PCR富集

- TIANSeq NGS Library Amplification Module (NG304)包含P5/P7引物，适用于两侧含有P5及P7序列的文库DNA片段的扩增。
- TIANSeq HiFi Amplification Mix (NG219)是一种新型高保真PCR扩增预混液，适用于高通量测序文库的PCR扩增。



TIANSeq直接快速DNA文库构建试剂盒 (illumina平台)

TIANSeq DirectFast DNA Library Prep Kit (illumina) (NG101)

——含片段化的快速DNA文库构建流程

产品特点

- 含片段化酶，适用于基因组/大片段DNA的快速文库构建
- 高度整合操作流程，省去多步纯化步骤，整个流程仅需2.5 hr
- 适合于低起始量样本高效转化，样本起始量可从1 ng到1 μg

适用样本

适用样本类型	基因组/大片段DNA
样本用量	100 ng~1μg

灵活的上样量和片段处理长度

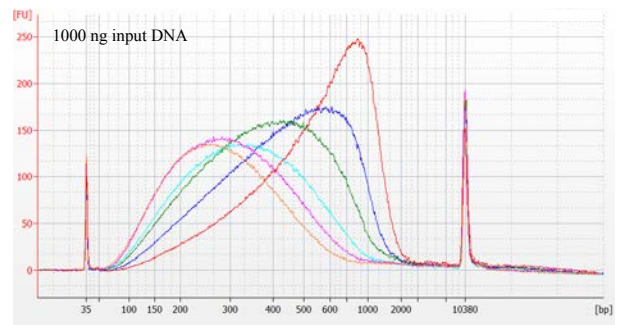
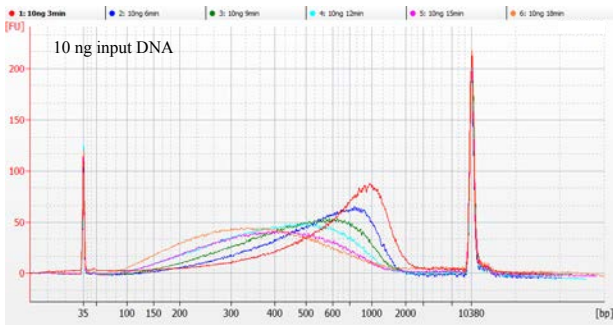


图 1. 不同反应时间对 DNA 片段化效果
使用“TIANSeq DirectFast DNA Library Prep Kit”对 10 ng 和 1000 ng DNA 进行片段化处理。处理不同时间的反应产物经 1.8× 磁珠进行纯化后用于 Angilent 2100 分析。

不同样本间的片段化均一性

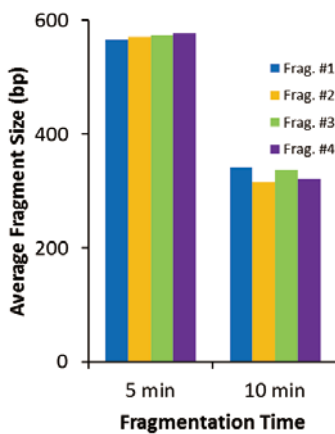


图 2. 不同样本 DNA 的片段化效果
使用 FEA module (NG301) 对不同样本间的 DNA 的片段化结果表明所得目的片段的长度一致性好。

不同物种基因组DNA的片段化均一性

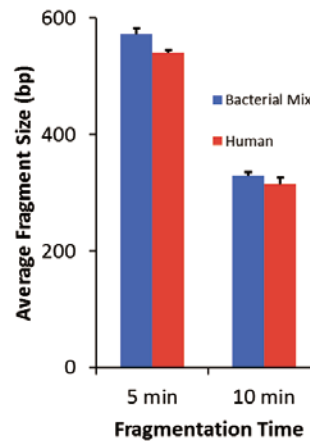


图 3. 不同物种基因组 DNA 的片段化效果
使用 FEA module (NG301) 对人 293T 细胞的基因组 DNA 和不同 GC 含量细菌基因组 DNA 的混合物的片段化结果表明所得目的片段的长度一致性好。

不同起始量DNA成库量比较

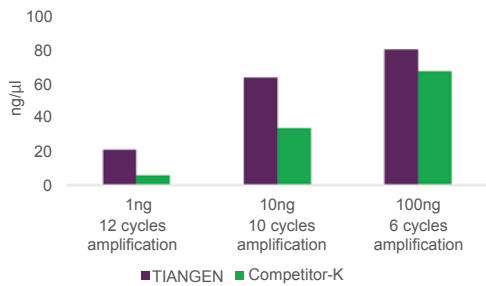


图4. 以不同起始量的DNA样本建库的成库量结果表明天根“TIANGEN DirectFast DNA Library Prep Kit”的成库量优于K公司的竞品。（文库浓度使用 Agilent 2100 生物分析仪测定）

文库构建效率与得率统计

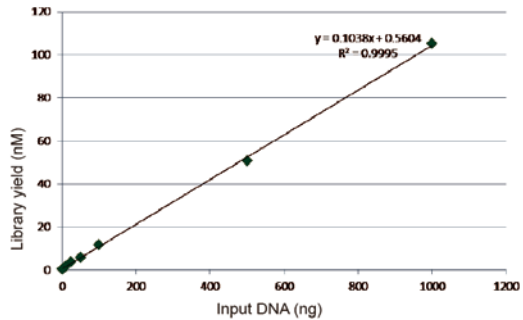


图5. 不同起始量样本 (1、10、25、50、100、500、1000 ng) 不经PCR富集方式进行文库构建后，使用qPCR对得到的文库DNA进行定量分析结果。线性回归分析表明在广泛的上样量范围内，文库得率均呈良好的线性关系。即使在上样量低至1ng的情况下，文库构建效率也不会降低。

片段化酶与机械片段化效果比较

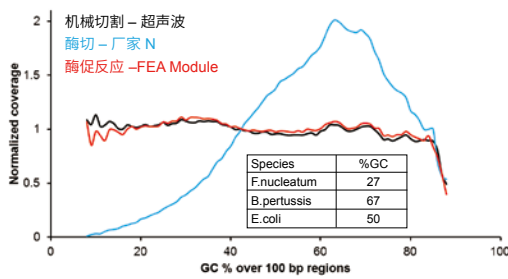


图6. 三种不同GC含量的细菌基因组DNA混合物经FEA Module (NG301) 处理后，基因组覆盖度的分析结果。每种基因组使用量为100ng，三种基因组等摩尔混合。结果表明：FEA Module (NG301) 对DNA的片段化效果与超声破碎高度一致，均不存在切割的偏好性。

采用PCR free步骤测序结果比较

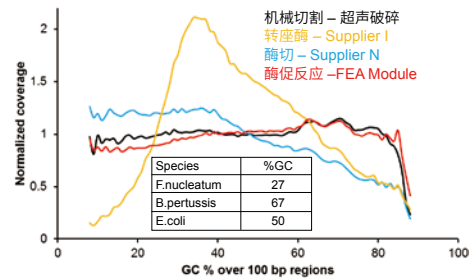


图7. 不同起始量的基因组DNA使用PCR或PCR free的方式进行文库构建，最终的基因组覆盖度对比。结果表明：使用FEA Module (NG301) 试剂及一管式操作和高效的文库构建步骤，无论是否进行PCR富集，所得到的DNA文库在片段覆盖度分布方面均与机械破碎方法保持高度一致。

样本低至1ng建库效果比较

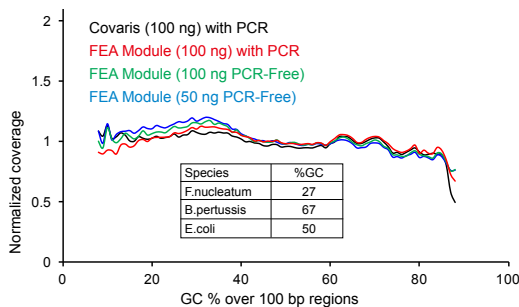


图8. 不同文库制备方案基因组覆盖度的对比结果，三种不同GC含量细菌基因组DNA等摩尔混合，1ng混合DNA经不同方案制备文库测序后比较基因组覆盖度。结果表明：即使低至1ng的DNA上样量，FEA Module (NG301) 的片段化效果仍然与超声破碎方法高度一致，没有切割偏好性。

测序数据对比

Fragmentation method		1ng Input DNA		100 ng Input DNA	
		Mapped Reads	Duplication	Mapped Reads	Duplication
Covaris	Mechanical	92.96%	0.09%	93.61%	0.03%
Competitor A	Tagmentation	93.76%	0.28%	/	/
Competitor B	Enzyme-based	86.91%	0.68%	91.40%	0.06%
TIANGEN DirectFast	Enzyme-based	91.92%	0.07%	94.45%	0.04%