

版本号: NG170208

TIANSeq DNA Fragmentation Module

TIANSeq DNA片段化模块

目录号: NG305

产品内容

产品组成	NG305-01 24 rxn	NG305-02 96 rxn
5 × Frag Enzyme Mix	240	960
10 × Frag Buffer	120	480
Nuclease-Free ddH ₂ O	1 ml	4 × 1 ml

储存条件

请将试剂盒置于-25~-15℃保存，避免反复冻融。保质期为一年。

产品简介

TIANSeq DNA片段化模块为高通量测序平台文库构建配套试剂盒，用于文库构建前的大片段DNA片段化。模块利用时间依赖型酶促反应的原理，根据不同的作用时间将双链DNA随机切割成200~500 bp的片段，所得片段为平末端双链DNA片段，5'端基团含有5'-P，3'端基团含有3'-OH，可直接进行后续的dA或adapter添加。通过TIANSeq DNA片段化模块对双链DNA随机的切割，表明本产品不具碱基偏好性，且不同类型切割DNA片段的测序覆盖率与机械切割一致。

适用范围：为构建NGS文库制备片段化的双链DNA。

适用样本量：1 ng~1 µg DNA

推荐使用的其他试剂

1. TIANSeq End Repair/dA-Tailing Module (NG302-01/02)
2. TIANSeq Fast Ligation Module (NG303-01/02)
3. TIANSeq NGS Library Amplification Module (NG304-01/02)

产品特点

1. 无需特殊仪器设备，通过酶促反应简便快速的片段化双链DNA。
2. 使用灵活，通过调整片段化时间，灵活调整DNA片段化长度。
3. 反应高效，单个反应体系即可完成1 ng~1 µg DNA样本的片段化。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

1. 操作过程请注意避免核酸样品和产物之间的交叉污染。
 2. 请使用不含RNA酶或DNA酶的枪头、EP管进行试验。
 3. 试验开始前，请清洁操作台，确保没有RNA酶和DNA的污染。
 4. 进行文库扩增前，请确保PCR仪已经调试好并处于稳定的状态。
 5. 试验前请仔细阅读说明书，如果需要暂停试验，或者无需立即进行下游试验。可根据说明书推荐将试验产物保存于-20℃并安排后续试验。
-

操作步骤

(一) 试验准备:

1. 在开始实验前, 明确核酸的浓度及纯度至关重要, 推荐DNA上样量为1 ng~1 µg。DNA需溶解于以下溶液中: 去离子水、10 mM Tris、Buffer EB或LoTE (0.1×TE) 等。

注意:

- 确定上样DNA浓度至关重要, 尤其在上样量低于100 ng时。推荐使用Qubit、Picogreen或者其他染料法对DNA浓度进行准确定量。
 - 请确认DNA溶液中不含阳离子及螯合剂。如果DNA溶解于1×TE或不确定DNA溶液中的EDTA浓度, 使用Agencourt AMPure XP磁珠进行纯化。
2. 将各试剂置于冰上, 5×Frag Enzyme Mix融化后用手指后轻弹混匀, 不要涡旋。其余试剂可短暂涡旋混匀。

(二) 试验步骤

1. 照下表设置PCR仪反应程序。开启热盖, 热盖温度设置为70度。

操作步骤	温度	时间
1	4°C	1 min
2	32°C	3-22 min*
3	65°C	30 min
4	4°C	保持

*注: 确切的片段化反应时间需要根据DNA的实际上样量进行优化。下表1中列出100 ng DNA片段化所需的时间。用户可以依据此时间进行调整。调整过程中, 我们推荐额外设置一个反应时间延长3 min以及一个缩短3 min的对照, 这样有助于确定切割至所需片段大小时所需要的准确反应时间。

表1片段化时间选择表

DNA主峰大小	片段化时间(min) (32°C)			
	200 bp	300 bp	400 bp	500 bp
100 ng DNA上样量	15	8	5	3.5

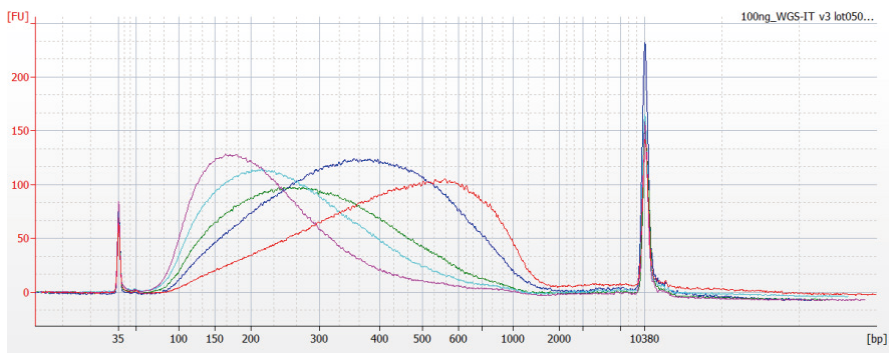


图1. 100 ng大肠杆菌基因组DNA片段化图谱（3~22 min）

- 在薄壁管中按下表配制反应体系，冰上操作，各组分加入后，请轻柔吸打混匀，注意不要涡旋。

组分名称	体积 (μl)
10×Frag Buffer	5
DNA样本	X
Nuclease-Free ddH ₂ O	(35-X)*
总体积	40

*注：对于多个反应，请计算所需试剂的总体系并在此基础上增加体系10%，以避免因溶液转移过程中挂壁损失而造成分装反应数不足的问题。

- 向薄壁管中加入10 μl 5×Frag Enzyme Mix，轻柔吹打6~8次，不要涡旋。
注：此过程需一直处于冰浴中进行。
- 将薄壁管短暂离心，收集溶液至管底后，立即转移至4℃预冷的PCR仪中，启动步骤1中的反应程序。
- 当反应程序结束，PCR仪温度降至4℃后，将薄壁管从PCR仪中取出并置冰上。立即进行下一步实验操作。