

NGS研究的基本过程



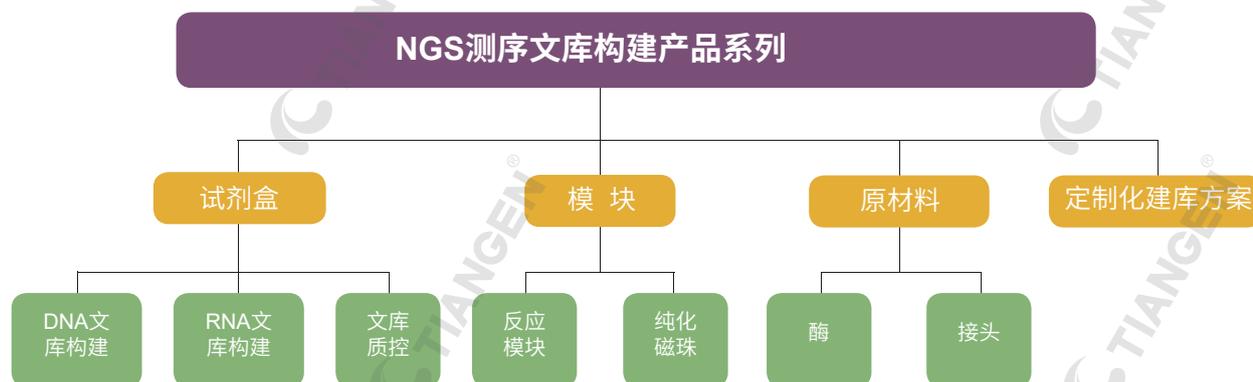
TIANGEN以集团全球高品质原料为基础，打造行业内首屈一指的样本制备、纯化、检测及NGS文库构建的相关产品及解决方案。

五二代测序文库构建



TIANGEN NGS 建库产品都有什么？

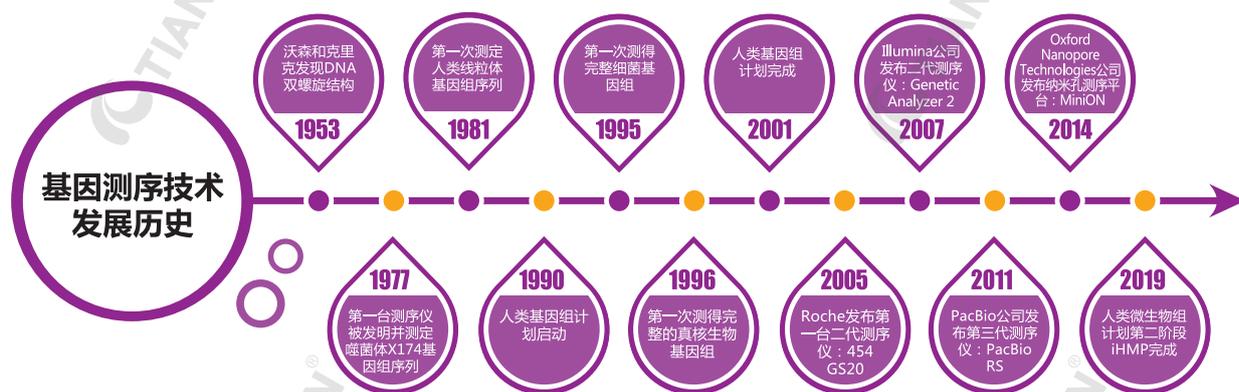
- 灵活的建库模块包含建库过程中的单个或多个可合并操作的步骤，可以和其它试剂组合用于特殊需要的工作流程。
- 可单独选购的各种原材料，充分的优化和调整空间，可以适应各种特殊的实验目的或者大批量建库的需要。
- 个性化的一站式建库解决方案，针对不同的文库特点和样本类型，帮您推荐适合您的建库各步所需的试剂，适合于科研服务建库及工业客户开展NGS 实验。



基因测序技术概况

基因测序技术

基因测序技术也称为核酸测序技术，即明确目的核酸片段碱基排列顺序的技术。早期的基因测序技术主要以获得目的DNA片段的碱基排列顺序为主，随着新一代测序技术的发展，通过测序直接获得RNA分子的碱基排列的技术也越来越成熟，但是目前应用最多的仍是获取目的DNA片段的序列，这也是进一步进行分子生物学研究和基因改造的基础。



从1977年第一代DNA测序技术，发展至今四十余年时间，测序技术已取得了巨大的发展，经历了从以Sanger测序为代表的第一代测序、第二代高通量测序到第三代测序，测序读长从长到短再到长，测序通量越来越高，测序技术的变革推动了基因组学的研究。目前，第二代高通量测序技术日趋成熟，广泛应用于科研和临床疾病诊断。

第一代：Sanger测序技术

第一代基因测序法即Sanger法测序，是根据核苷酸在某一固定的点开始，随机在某一个特定碱基处终止，并且在每个碱基后面进行荧光标记产生以A、T、C、G结束的四组不同长度一系列核苷酸，然后在尿素变性PAGE胶上电泳进行检测，从而获得可见的DNA碱基序列。

第二代：NGS测序技术

第二代测序即NGS测序，核心思想是边合成边测序或边连接边测序，通过物理或化学的方式将模板DNA随机打断成小片段并通过PCR对文库进行扩增，同时对几十万到几百万条DNA模板进行测序，最后通过生物信息学分析将小片段拼接成长片段。经过市场的筛选，目前市面上的主流二代测序平台主要为Illumina平台和Ion torrent平台，华大智造的BGI平台属于后起之秀，目前正处于快速拓展市场阶段。TIANGEN生化的文库构建产品，主要匹配二代测序平台的需求，提供满足Illumina测序平台文库构建需要的建库试剂盒、模块、原料及定制化方案，同时也提供Ion torrent平台和华大BGI测序平台的定制化建库方案。

第三代：单分子测序技术

第三代测序技术是指单分子测序技术，对于DNA样本不需要经过PCR扩增，实现直接对每一条DNA分子的单独测序。目前的测序技术主要包括PacBio的单分子荧光测序技术和Oxford Nanopore的纳米孔单分子测序技术。

PacBio单分子荧光测序技术

应用了边合成边测序的思想，并以SMRT芯片为测序载体，芯片上有很多小孔，每个孔中均有DNA聚合酶。测序基本原理是：DNA聚合酶和模板结合，4色荧光标记4种碱基(即dNTPs)，在碱基配对阶段，不同碱基的加入，会发出不同光，根据光的波长与峰值可判断进入的碱基类型。

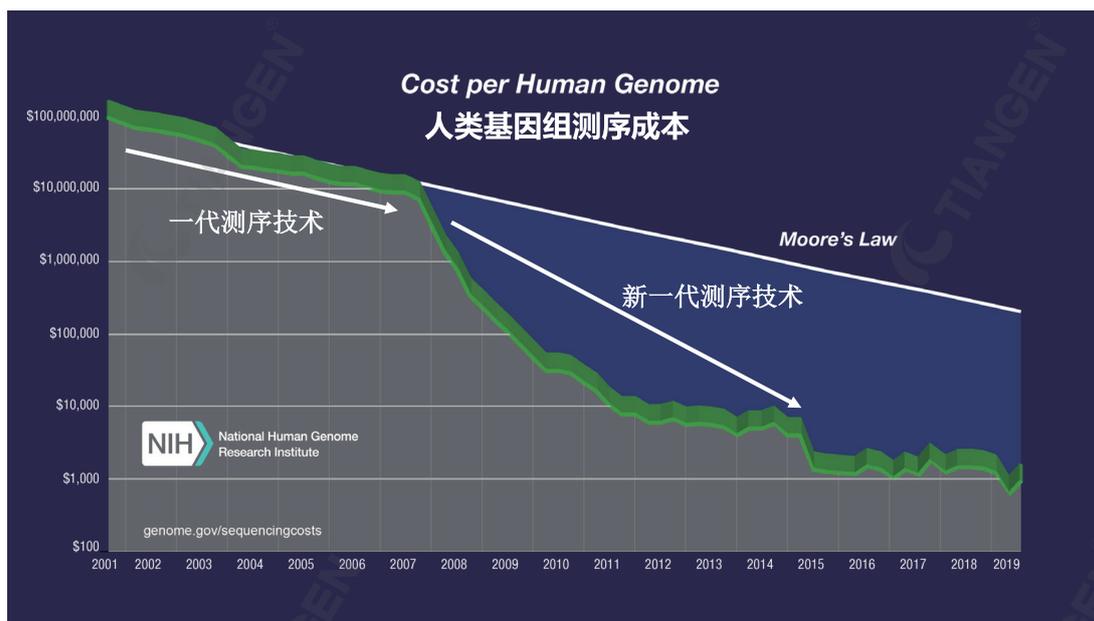
Oxford Nanopore纳米孔单分子测序技术

基于电信号的测序技术，借助电泳驱动单个分子逐一通过纳米孔来实现测序。由于纳米孔的直径非常细小，仅允许单个核酸聚合物通过，而ATCG单个碱基的带电性质不一样，通过电信号的差异就能检测出通过的碱基类别。

测序技术发展趋势

1. 测序成本越来越低，预计使用二代测序超高通量平台近期有望让人全基因组测序成本降低至100美元；
2. 二代测序技术仍是现在应用最广的测序技术，且往测序更精准、读长更长方向发展。

2001-2019年人类基因组测序成本统计结果



数据来源: DNA Sequencing Costs Data NHGRI

随着高通量测序技术的发展，单个人类基因组的测序成本已低于1000美元。

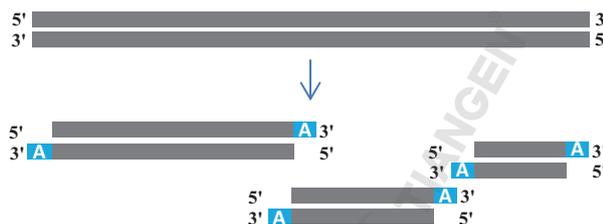
产品选择指南-DNA建库篇

当我们使用二代测序技术对样本进行测序时，主要经过样本核酸提取、文库构建、上机测序、数据分析 and 结果验证几个步骤。其中，DNA文库构建是二代测序技术的基础，DNA文库构建的本质就是在将待测定样本的大片段基因组DNA片段化为小片段的DNA，之后在小片段DNA分子两端添加测序接头，形成能上机测序有效的文库分子的过程。具体的二代测序小片段DNA文库构建流程包括DNA片段化、末端修复、A尾添加、接头连接和PCR富集五步。（下图是适用于Illumina平台的DNA快速建库流程）

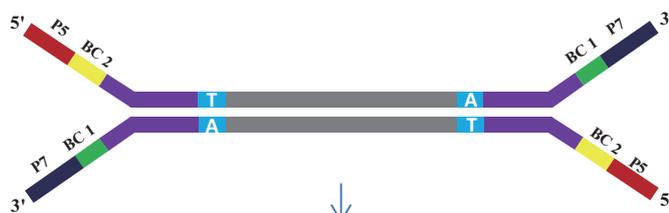
快速一站式建库方案（Illumina平台适用）

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)

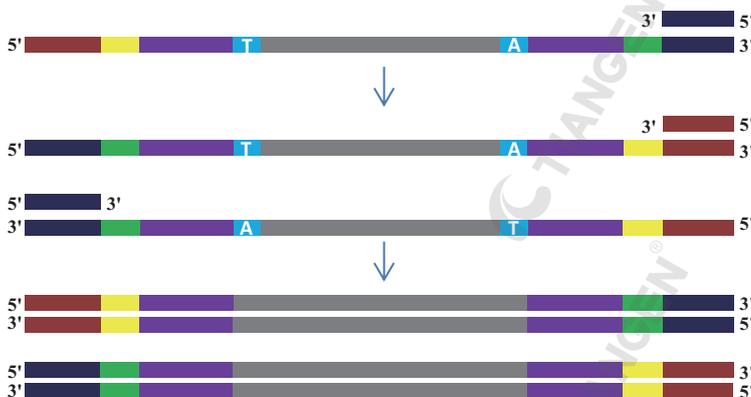
- Step1 DNA片段化/末端修复/添加A尾**
- TIANSeq Fragmentation/End repair/dA-tailing Module (NG301) 可将gDNA和大片段DNA的片段化、末端修复、A尾添加反应一步完成。
 - 本模块对DNA的片段化是随机进行的，不具有碱基偏好性。



- 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。



DNA建库产品选择指南

DNA文库构建	建库流程	试剂盒		DIY建库方案			建库配套材料	
	DNA片段化	NG101	/	NG301	NG305		DNA纯化分选 磁珠: NG306	
	末端修复		NG102		NG302	NG205		NG203
	A尾添加					NG202/NG215		
	接头连接			NG303		NG201	接头 (for Illumina) 单Index NG214	
	PCR富集			NG304		NG219		

产品信息 (Kit and Module)

特点	产品名称	目录号	规格	目录价
片段化快速	TIANSeq直接快速DNA文库构建试剂盒	NG101-01	24次	6432元
	TIANSeq DirectFast Library Kit (Illumina)	NG101-02	96次	23600元
快速	TIANSeq快速DNA文库构建试剂盒	NG102-01	24次	5680元
	TIANSeq Fast DNA Library Kit (Illumina)	NG102-02	96次	19800元

特点	产品名称	目录号	规格	目录价
片段化未修加A	TIANSeq快速DNA片段化/末端修复/dA添加模块	NG301-01	24次	3580元
	TIANSeq Fragment/Repair/Tailing Module	NG301-02	96次	11560元
未修加A	TIANSeq末端修复/dA添加模块	NG302-01	24次	2400元
	TIANSeq End repair/dA-Tailing Module	NG302-02	96次	7680元
连接	TIANSeq快速连接模块	NG303-01	24次	2500元
	TIANSeq Fast Ligation module	NG303-02	96次	8980元
富集	TIANSeq NGS文库富集模块	NG304-01	24次	1760元
	TIANSeq NGS Library Amplification Module	NG304-02	96次	6480元
片段化	TIANSeq DNA片段化模块	NG305-01	24次	720元
	TIANSeq DNA Fragmentation Module	NG305-02	96次	2400元
染料法	TIANSeq文库定量试剂盒(Illumina)	NG105-01	20 μ l \times 500次	6480元
	TIANSeq DNA Quantification Kit (Illumina)			
核酸纯化	TIANSeq DNA片段分选磁珠	NG306-01	15 ml	2480元
	TIANSeq Size Selection DNA Beads	NG306-02	60 ml	7180元
		NG306-03	300 ml	29800元

TIANSeq 直接快速 DNA 文库构建试剂盒 (Illumina)

TIANSeq DirectFast Library Kit (Illumina)

— 无需片段化预处理的新一代 DNA 建库技术

目录号	包装	价格
NG101-01	24 rxn	6432 元
NG101-02	96 rxn	23600 元

产品包装

试剂盒组成	NG101-01	NG101-02
5×FEA Enzyme Mix	240 μl	960 μl
10×FEA Reaction Buffer	120 μl	480 μl
FEA Enhance	120 μl	480 μl
TIANSeq DNA Ligase	240 μl	960 μl
5×Ligation Buffer	500 μl	2×1 ml
2×HiFi PCR MasterMix	600 μl	4×600 μl
P5/P7 Primers Mix(10μM each)	120 μl	480 μl
Nuclease-Free ddH ₂ O	1 ml	4×1 ml

自备试剂

TIANSeq Single-Indexed Adapter(Illumina® Platforms)
(Cat# NG214)。

TIANSeq DNA 片段分选磁珠 (Cat# NG306)

保存条件

试剂盒于 -15~-25℃ 保存

产品简介

TIANSeq DirectFast Library Kit(Illumina) 是专门针对 Illumina 高通量测序平台所优化的 DNA 文库构建试剂盒。本试剂盒实现了 DNA 片段化、末端修复和 3' 端 dA 尾添加在一管内一步法完成, 同时所得产物无需纯化, 可直接用于 adapter 的连接。另外, 本试剂盒配备的 PCR 扩增试剂经过专门的优化, 扩增所得 DNA 序列产量高, 保真度好、无碱基偏好性。本产品采用一步法的反应流程, 省去了多步纯化步骤, 整个建库流程仅需 2.5 hr; 文库转化效率更高, 可对微量 DNA 样本进行高效的文库构建。

产品特点

- DNA 片段化过程和 PCR 富集过程不存在碱基偏好性, 测序均一度好。
- 高文库转化效率, DNA 样本起始量可低至 1 ng。
- 一管式酶促反应, 操作简便, 省去多步纯化步骤, 整个建库流程仅需 2.5 hr。

适用范围

适用于 Illumina 高通量测序平台 DNA 文库构建

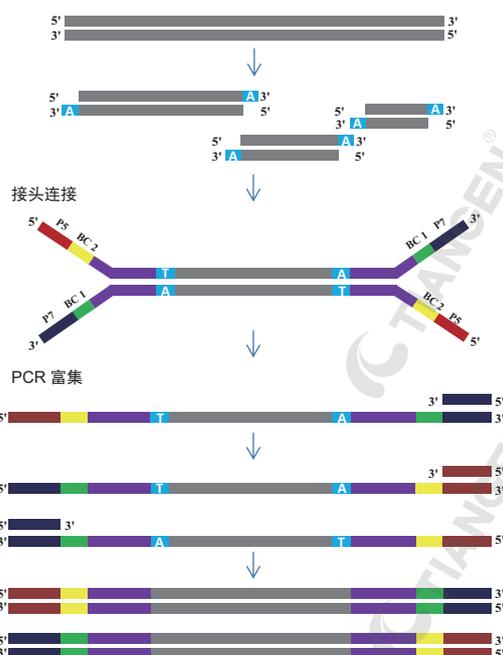
适用样本量

1 ng ~ 1 μg DNA

TIANSeq 直接快速文库构建试剂盒流程



DNA 片段化 / 末端修复 / 添加 A 尾



灵活的上样量和片段处理长度

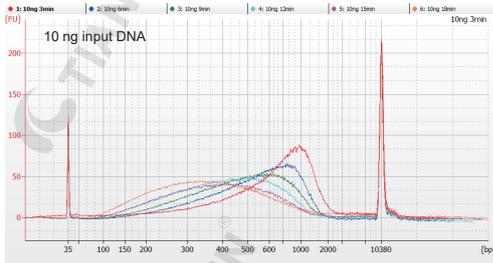
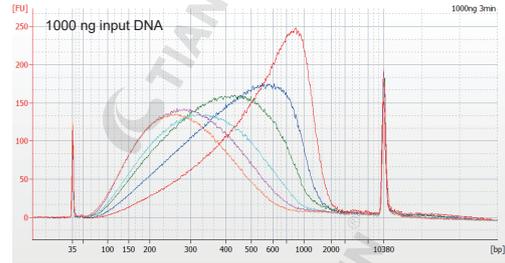


图 1. 不同反应时间对 DNA 片段化效果
使用“TIANGEN DirectFast DNA Library Prep Kit”对 10 ng 和 1000 ng DNA 进行片段化处理。处理不同时间的反应产物经 1.8× 磁珠进行纯化后用于 Agilent 2100 分析。



片段化酶与机械片段化效果比较

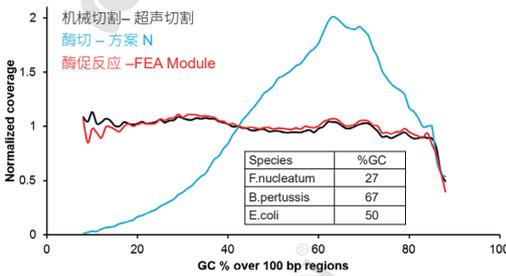


图 2. 不同文库制备方案基因组覆盖的对比结果，三种不同 GC 含量细菌基因组 DNA 等摩尔混合，100 ng 混合 DNA 经不同方案制备文库测序后比较基因组覆盖度。结果表明：FEA Module (NG301) 对 DNA 的片段化效果与超声破碎高度一致，均不存在碱基偏好性。

样本低至 1ng 建库效果比较

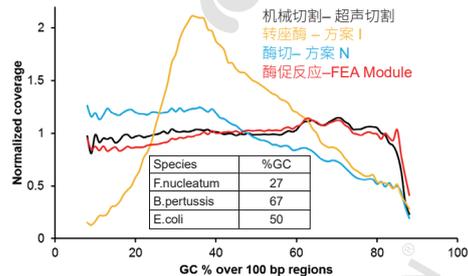


图 3. 不同文库制备方案基因组覆盖的对比结果，三种不同 GC 含量细菌基因组 DNA 等摩尔混合，1 ng 混合 DNA 经不同方案制备文库测序后比较基因组覆盖度。结果表明：即使低至 1 ng 的 DNA 上样量，FEA Module (NG301) 的片段化效果仍然与超声破碎方法高度一致，没有碱基偏好性。

采用 PCR free 步骤测序结果比较

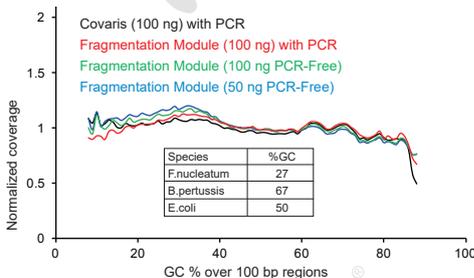


图 4. 不同初始量的基因组 DNA 使用 PCR 或 PCR free 的方式进行文库构建，最终的基因组覆盖对比。结果表明：使用 Fragmentation Module (NG301) 试剂及一管式操作和高效的文库构建步骤，无论是否进行 PCR 富集，所得到的 DNA 文库在片段覆盖度分布方面均与机械破碎方法保持高度一致。

文库构建效率与得率统计

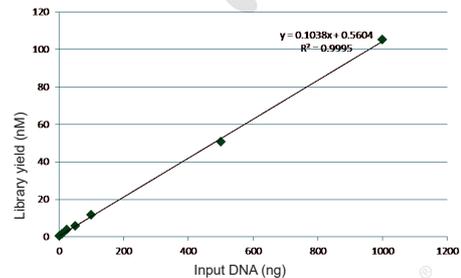


图 5. 不同起始量样本 (1、10、25、50、100、500、1000 ng) 进行文库构建后，使用 qPCR 对得到的文库 DNA 进行定量分析结果。线性回归分析表明在广泛的上样量范围内，文库得率均呈良好的线性关系。即使在上样量低至 1 ng 的情况下，文库构建效率也不会降低。

不同产品测序数据对比

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%
方案 I	Tagmentation	93.76%	0.28%	/	/
方案 N	Enzyme-based	86.91%	0.68%	91.40%	0.06%
FEA Module	Enzyme-based	91.92%	0.07%	94.45%	0.04%

TIANSeq 快速 DNA 文库构建试剂盒 (Illumina)

TIANSeq Fast DNA Library Kit (Illumina)

— 新一代快速 DNA 建库技术

目录号	包装	价格
NG102-01	24 rxn	5680 元
NG102-02	96 rxn	19800 元

产品包装

试剂盒组成	NG102-01	NG102-02
5×ERA Enzyme Mix	240 μl	960 μl
10×ERA Buffer	120 μl	480 μl
TIANSeq DNA Ligase	240 μl	960 μl
5×Ligation Buffer	500 μl	2×1 ml
2×HiFi PCR MasterMix	600 μl	4×600 μl
10×P5/P7 Primers Mix	120 μl	480 μl
Nuclease-Free ddH ₂ O	1 ml	4×1 ml

自备试剂

TIANSeq Single-Indexed Adapter(Illumina® Platforms)
(Cat# NG214)。

TIANSeq DNA 片段分选磁珠 (Cat# NG306)

保存条件

试剂盒于 -15~-25°C 保存

产品简介

TIANSeq Fast DNA Library Kit(Illumina) 是专门针对 Illumina 高通量测序平台所优化的 DNA 文库构建试剂盒。本产品可将经超声处理、化学处理、酶处理的片段化双链 DNA 或小片段 DNA 的末端修复和 3' 端 dA 尾添加在一管内一步法完成, 同时所得产物无需纯化, 可直接用于 adapter 的连接。另外, 本试剂盒配备的 PCR 扩增试剂经过专门的优化, 扩增所得 DNA 序列产量高, 保真度好、无碱基偏好性。本产品采用一步法的反应流程, 省去了多步纯化步骤, 整个文库构建流程仅需 2 hr; 文库转化效率更高, 可对微量 DNA 样本进行高效的文库构建。

产品特点

- 单管酶促反应, 一步完成双链 DNA 片段的末端修复、dA 添加反应。
- PCR 富集过程不存在碱基偏好性, 测序均一度好。
- 高文库转化效率, DNA 样本起始量可低至 0.25 ng。

适用范围

适用于 Illumina 高通量测序平台 DNA 文库构建。

适用样本量

0.25 ng ~ 1 μg DNA

TIANSeq 快速文库构建试剂盒建库流程



成库量对比

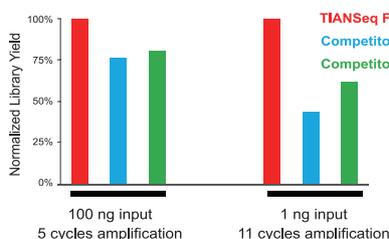


图 1. 不同产品间样本成库量比较

低样本量基因组覆盖率

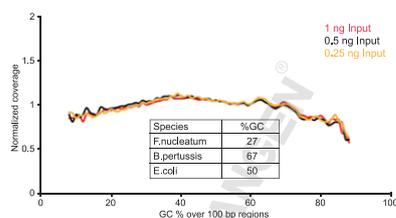


图 2. 三种不同 GC 含量细菌基因组低样本量覆盖率结果。三种不同 GC 含量细菌基因组在等摩尔比混合、不同基因组样本量 (1、0.5、0.25 ng) 覆盖率比较。结果表明: 对于微量样本库构建, TIANSeq Fast 保证了良好的稳定性及高的转化率。

不同产品测序数据对比

	100 ng Input DNA		1 ng Input DNA	
	Mapped Reads	Duplication	Mapped Reads	Duplication
TIANSeq Fast	93.76%	0.03%	93.05%	0.06%
Competitor K	93.68%	0.02%	92.82%	0.07%
Competitor N	93.59%	0.02%	93.65%	0.05%

TIANSeq DNA 片段分选 / 纯化磁珠

TIANSeq Size Selection DNA Beads

——可用于目的长度 DNA 片段的分选及文库构建中的纯化

目录号	包装	价格
NG306-01	15 ml	2480 元
NG306-02	4 × 15 ml	7180 元

产品包装

试剂盒组成	NG306-01	NG306-02
磁珠结合液 DM	15 ml	4 × 15 ml
洗脱缓冲液 TB	15 ml	2 × 15 ml

自备试剂

80% 乙醇，现用现配

保存条件

试剂盒于 2-8℃ 保存

下游应用

可广泛应用于 NGS 文库构建中特定长度 DNA 片段的分选与纯化

产品简介

TIANSeq DNA 片段分选磁珠是一款可以用于 DNA 片段分选和 DNA 产物纯化的核酸纯化产品。

该试剂盒采用高性能磁珠和独特缓冲液体系，通过调整磁珠与样本的比例，无需割胶即可实现 100 bp~1000 bp 的双链及单链 DNA 片段的分选及纯化。使用本试剂盒可有效去除反应体系中的 dNTP、盐离子及有机杂质等，所得 DNA 片段纯度高，回收效率可达 90% 以上。

产品特点

- 高效：DNA 片段纯化得率高，效率可达 90%。
- 简便：无需割胶，自由选择所分选 DNA 片段的长度。
- 兼容：兼容手工操作或自动化工作站的高通量操作。

实验例

DNA 片段分选范围

使用 TIANSeq 直接快速 DNA 文库构建试剂盒 (Cat#NG101) 时，可参照下表对片段化后的 DNA 进行磁珠分选（其他反应体系可参照此表进行调整），分选后片段使用 Agilent 2100 Bioanalyzer 进行分析。

表 1. DNA 片段分选推荐磁珠结合液用量

打断片段平均长度 (bp)	~ 100	~ 200	~ 300	~ 480	~ 780	
文库片段平均长度 (bp) (打断片段 + 接头)	~ 220	~ 320	~ 420	~ 600	~ 900	
磁珠用量	第一次筛选	0.7 倍	0.6 倍	0.5 倍	0.4 倍	0.3 倍
	第二次筛选	0.1 倍				

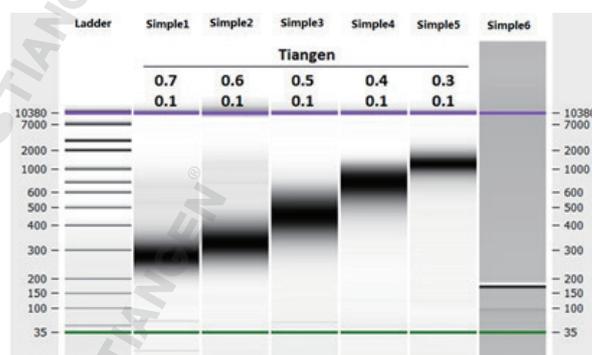


图 1. 分选后 DNA 片段 Agilent 2100 Bioanalyzer 检测结果。

TIANSeq 单索引接头 (Illumina)

TIANSeq Single-Index Adapter (Illumina)

适用于 Illumina 平台测序的高精度连接接头

目录号	包装	价格
NG214-01 (SetA)	12×40 µl	12800 元
NG214-02 (SetB)	12×40 µl	12800 元
NG214-03 (SetA+B)	24×40 µl	24800 元

产品包装

试剂盒组成	NG214-01	NG214-02	NG214-03
TIANSeq 单 index 接头 (30 µM)	12×40 µl	12×40 µl	24×40 µl
接头稀释液	5×1.8 ml	5×1.8 ml	10×1.8 ml

自备试剂

80% 乙醇, 现用现配

保存条件

试剂盒于 -15~-25°C 保存, 避免反复冻融

适用范围

1. 整体来说, 本产品在二代测序 (NGS) 应用中, 用于 Illumina 高通量测序平台下 DNA 和 RNA 文库的构建;
2. 本产品的具体应用包括: 外显子测序, 靶向测序, RNA-Seq, ChIP-Seq, 以及定向测序和全基因组测序;
3. 需要注意的是, 本产品不适用于甲基化相关的测序

产品简介

TIANSeq Single-Indexed Adapter 是专门针对于 Illumina 高通量测序平台所开发的 DNA 接头。可用于 Illumina 高通量测序平台下 DNA 和 RNA 文库的构建。试剂盒分为 12 种接头和 24 种接头两种形式, 每种接头均含有唯一的 6 碱基 index 序列 (barcode), 以便于在多样品混合测序时进行不同样品的区分。

产品特点

- 选择方便: 分为 setA 和 SetB 两组提供 24 种单 Index 标记, 可根据需求自由选择。
- 使用方便: 试剂盒中配备接头稀释液, 稳定性强, 直接用于接头溶液稀释。
- 质量控制: 批次间经严格质量控制和功能验证, 保证 index 序列准确性。

接头序列信息

接头序列包括如下信息:

1、Universal Sequence

5'-AATGATACGGCGACCACCGAGATCTA-
CACTCTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCT-3'

2、Index Including Sequence

5'-GATCGGAAGAGCACACGTCTGAACTCCAGT-
CAC[index1-27]ATCTCGTATGCCGTCTTCT-
GCTTG-3'

3、Index 编号和序列

Set A		Set B	
Index	Sequence	Index	Sequence
1	ATCACG	13	AGTCAA
2	CGATGT	14	AGTTCC
3	TTAGGC	15	ATGTCA
4	TGACCA	16	CCGTCC
5	ACAGTG	18	GTCCGC
6	GCCAAT	19	GTGAAA
7	CAGATC	20	GTGGCC
8	ACTTGA	21	GTTTCG
9	GATCAG	22	CGTACG
10	TAGCTT	23	GAGTGG
11	GGCTAC	25	ACTGAT
12	CTTGTA	27	ATTCCCT

TIANSeq 文库定量试剂盒 (Illumina 平台)

TIANSeq DNA Quantification Kit (Illumina)

—染料法精准定量测序文库

目录号	包装	价格
NG105-01	20 μ l \times 500 rxn	6480 元

产品包装

试剂盒组成	NG105-01
2 \times Quant MasterMix(SYBR Green)	1.25 ml \times 4
10 \times Library Dilution Buffer	2 ml
10 \times qPCR Primer Mix	1 ml
DNA Standard 1 (20 pM)	100 μ l
DNA Standard 2 (2 pM)	100 μ l
DNA Standard 3 (0.2 pM)	100 μ l
DNA Standard 4 (0.02 pM)	100 μ l
DNA Standard 5 (0.002 pM)	100 μ l
DNA Standard 6 (0.0002 pM)	100 μ l
50 \times ROX Dye	1 ml
RNase-Free ddH ₂ O	1 ml \times 5

下游应用

进行 Illumina 平台下高通量测序文库浓度测定

保存条件

-20 $^{\circ}$ C 避光保存

产品简介

本产品是通过 SYBR[®] Green I 嵌合荧光 qPCR 法进行 Illumina 平台下高通量测序文库浓度测定的专用试剂盒。具体的工作原理是以 Illumina P5 和 P7 芯片结合序列为引物，利用试剂盒提供的 6 个标准品绘制标准曲线，再根据标准曲线通过绝对定量法来计算待测文库的浓度。

本试剂盒提供了文库定量所需的所有组分，其中的 2 \times Quant MasterMix (SYBR Green) 采用了抗体修饰的热启动型 Taq DNA 聚合酶，配合添加了 H-competite 因子和 EP 组分的 qPCR Buffer 体系，使得 qPCR 预混液具有广泛的样本普适性，同时还具有扩增效率高，检测特异性好、GC 含量适应性广、检测灵敏度高等特点，最大程度的保障了文库浓度定量的准确性和重复性。

产品特点

- 简便快速：试剂盒提供了用于文库定量的所有试剂，操作简便快速，与上游建库试剂盒兼容性好；
- 定量准确：检测试剂扩增效率高，特异性好，在 0.0002 pM ~ 20 pM 范围内均有很好的线性关系；
- 适应广泛：试剂盒提供的 qPCR 试剂具有良好的 GC 含量和扩增片段大小普适性。

TIANSeq 快速 DNA 片段化 / 末端修复 / dA 添加模块

TIANSeq Fragment/Repair/Tailing Module

—酶法一步快速完成无偏的 DNA 片段化、末端修复、dA 添加

目录号	包装	价格
NG301-01	24 rxn	3580 元
NG301-02	96 rxn	11560 元

产品包装

试剂盒组成	NG301-01	NG301-02
5 \times FEA Enzyme Mix	240 μ l	960 μ l
10 \times FEA Reaction Buffer	120 μ l	480 μ l
FEA Enhance	120 μ l	480 μ l
Nuclease-Free ddH ₂ O	1 ml	4 \times 1 ml

自备试剂

TIANSeq 快速连接模块 (Cat# NG303)
 TIANSeq NGS 文库富集模块 (Cat# NG304)
 TIANSeq 单索引接头 (Illumina) (Cat# NG214)
 TIANSeq DNA 片段分选磁珠 (Cat# NG306)

保存条件

试剂盒于 -15~-25 $^{\circ}$ C 保存

适用范围

用于双链 DNA 的片段化、末端修复及 3' 端添加 dA，适用于 Illumina 高通量测序平台 DNA 文库构建。
 适用样本量：1 ng~1 μ g DNA

产品简介

TIANSeq Fragment/Repair/Tailing module 是专门针对 Illumina 高通量测序平台所优化的预混酶模块，包含了 DNA 片段化、末端修复以及 3' 端 dA 尾添加所需的所有酶类，可将双链 DNA 片段化为小片段，并分别在片段化 DNA 两端添加 5'-P 和 3' 端 dA，所得产物无需纯化，可直接通过 TIANSeq Fast Ligation module (NG303-01/02) 用于 adapter 的连接。该模块采用一步法的反应流程，省去了多步纯化步骤，可对微量 DNA 样本进行高效、快速的片段化、末端修复及 dA 尾添加，操作更加简便，文库转化效率更高。

产品特点

- 单管酶促反应，一步完成双链 DNA 的片段化、末端修复、dA 添加反应。
- 高文库转化效率，DNA 样本起始量可低至 1 ng。

TIANSeq 末端修复 /dA 添加模块

TIANSeq End Repair/dA-Tailing Module

——酶法一步快速完成 DNA 末端修复、dA 添加

目录号	包装	价格
NG302-01	24 rxn	2400 元
NG302-02	96 rxn	7680 元

产品包装

试剂盒组成	NG302-01	NG302-02
5×ERA Enzyme Mix	240 μl	960 μl
10×ERA Buffer	120 μl	480 μl
Nuclease-Free ddH ₂ O	1 ml	4×1 ml

自备试剂

TIANSeq 快速连接模块 (Cat# NG303)
 TIANSeq NGS 文库富集模块 (Cat# NG304)
 TIANSeq 单索引接头 (Illumina) (Cat# NG214)
 TIANSeq DNA 片段分选磁珠 (Cat# NG306)

保存条件

试剂盒于 -15~-25℃ 保存

适用范围

用于双链 DNA 片段的末端修复及 3' 端添加 dA, 适用于 Illumina 高通量测序平台。
 适用样本量: 0.25 ng~1 μg DNA

产品简介

TIANSeq End Repair/dA-Tailing Module 是专门针对 Illumina 高通量测序平台文库构建所优化预混酶模块, 能够对超声处理、化学处理、酶处理的片段化双链 DNA 或小片段 DNA 的末端进行修复, 使 DNA 双链形成平末端, 并分别在片段化 DNA 两端添加 5'-P 和 3' 端 dA, 所得产物无需纯化, 直接用于 TIANseq Fast Ligation Module (NG303-01/02) 进行 DNA 片段的 adapter 连接。本试剂盒采用一步法反应流程, 省去了多步纯化步骤, 可对极低 DNA 样本进行高效、快速末端修复及 dA 尾添加, 操作更加简便, 文库转化效率更高。

产品特点

- 单管酶促反应, 一步完成双链 DNA 片段的末端修复、dA 添加反应。
- 高文库转化效率, DNA 样本起始量可低至 0.25 ng。

TIANSeq 快速连接模块

TIANseq Fast Ligation Module

——快速高效的连接酶体系

目录号	包装	价格
NG303-01	24 rxn	2500 元
NG303-02	96 rxn	8980 元

产品包装

试剂盒组成	NG303-01	NG303-02
TIANSeq DNA Ligase	240 μl	960 μl
5×Ligation Buffer	500 μl	2×1 ml
Nuclease-Free ddH ₂ O	1 ml	2×1 ml

自备试剂

TIANSeq 快速 DNA 片段化 / 末端修复 /dA 添加模块 (Cat# NG301)
 TIANSeq 末端修复 /dA 添加模块 (Cat# NG302)
 TIANSeq NGS 文库富集模块 (Cat# NG304)
 TIANSeq 单索引接头 (Illumina) (Cat# NG214)
 TIANSeq DNA 片段分选磁珠 (Cat# NG306)

保存条件

试剂盒于 -15~-25℃ 保存

适用范围

将 DNA adapter 与 3' 端添加 dA 的 DNA 文库片段的快速连接
 适用样本量: 0.25 ng~1 μg DNA

产品简介

TIANseq Fast Ligation module 是专门针对 Illumina 高通量测序平台所优化的预混酶模块。使用本模块可以将 3' 端带有 dA 尾的 DNA 片段与 adapter 进行快速连接。与常规方法比较, 本模块采用了一步法反应流程, TIANSeq Fragmentation/End Repair/dA-Tailing Module 或 TIANSeq End Repair/dA-Tailing Module 反应后所获得的片段后 DNA, 无需磁珠纯化, 可使用本模块直接与 adapter 进行连接, 省去了多步磁珠纯化步骤, 操作更加简便, 文库转化效率更高。

产品特点

- 无需磁珠纯化, 可直接将 DNA adapter 与带有 dA-Tailing 的 DNA 片段连接。
- 连接高效, 可进行微量样本的 DNA adapter 连接。

TIANSeq NGS 文库富集模块

TIANSeq NGS Library Amplification Module

——高保真、无偏好性的 PCR 快速扩增试剂

目录号	包装	价格
NG304-01	24 rxn	1760 元
NG304-02	96 rxn	6480 元

产品包装

试剂盒组成	NG304-01	NG304-02
2×HiFi PCR MasterMix	600 μl	4×600 μl
P5/P7 Primers Mix(10μM each)	120 μl	480 μl

自备试剂

TIANSeq 快速 DNA 片段化 / 末端修复 / dA 添加模块 (Cat# NG301)

TIANSeq 末端修复 / dA 添加模块 (Cat# NG302)

TIANSeq 快速连接模块 (Cat# NG303)

TIANSeq 单索引接头 (Illumina) (Cat# NG214)

TIANSeq DNA 片段分选磁珠 (Cat# NG306)

保存条件

试剂盒于 -15~-25°C 保存

适用范围

适用于 Illumina 高通量测序平台 DNA 文库的富集

产品简介

TIANSeq NGS Library Amplification Module 是专为 Illumina 高通量测序平台 DNA 文库扩增优化的 PCR 反应试剂, 扩增所得 DNA 序列高度保真、无碱基偏好性。试剂中所包含有的 P5/P7 Primers Mix 是正向和反向引物的混合液, 适用于两侧含有 P5 及 P7 序列的文库 DNA 片段的扩增。如果选用其他引物, 请参照相应的供应商说明书。若使用 TIANSeq Fragmentation/repair/tailing module (NG301-01/02) 进行文库构建, 当上样量低于 100 ng 时需要对外文库进行扩增。

产品特点

- 扩增保真性高, 无碱基偏好性。
- 高扩增效率, 可对低至 1 ng 起始文库 DNA 进行富集。
- 包含 P5/P7 引物, 直接用于 Illumina 平台 DNA 文库的富集。

TIANSeq DNA 片段化模块

TIANSeq DNA Fragmentation Module

——酶法高效快速片段化双链 DNA

目录号	包装	价格
NG305-01	24 rxn	720 元
NG305-02	96 rxn	2400 元

产品包装

试剂盒组成	NG305-01	NG305-02
5×Frag Enzyme Mix	240 μl	960 μl
10×Frag Buffer	120 μl	480 μl
Nuclease-Free ddH ₂ O	1 ml	4×1 ml

自备试剂

TIANSeq 快速连接模块 (Cat# NG303)

TIANSeq DNA 片段分选磁珠 (Cat# NG306)

保存条件

试剂盒于 -15~-25°C 保存

适用范围

为构建 NGS 文库制备片段化双链 DNA

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。

产品特点

- 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。
- 使用灵活, 通过调整片段化时间, 灵活调整 DNA 片段化长度。
- 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。

TIANSeq 高保真 PCR 反应预混液

TIANSeq HiFi Amplification Mix

NEW

— 高成库量、高保真、低偏好的文库富集 PCR 预混液

目录号	包装	价格
NG219-01	1 ml	600 元
NG219-02	5×1 ml	2800 元
NG219-11	1 ml	600 元
NG219-12	5×1 ml	2800 元

产品包装

试剂盒组成	NG219-01	NG219-02	NG219-11	NG219-12
2×HiFi Amplification Mix	1 ml	5×1 ml	1 ml	5×1 ml
Nuclease-Free dH ₂ O	1 ml	5×1 ml	1 ml	5×1 ml
Loading dye in Mix	Yes	Yes	No	No

自备试剂

引物、模板

保存条件

请将试剂盒置于 -15~-25℃ 保存，避免反复冻融。保质期为一年。

下游应用

二代测序文库 PCR 富集、一代测序 PCR 扩增、高保真克隆、SNP 检测、定点突变等。

产品简介

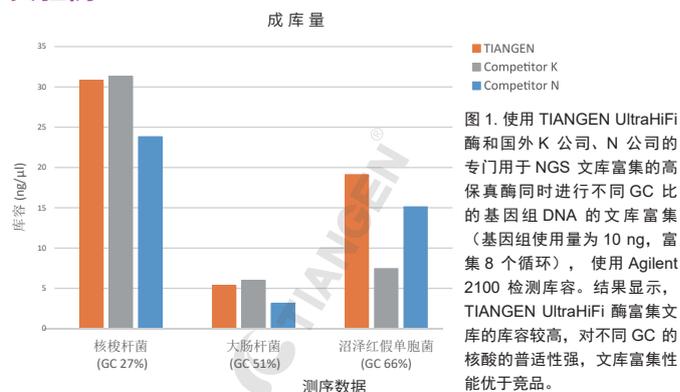
TIANSeq HiFi Amplification Mix 是一种新型高保真 PCR 扩增预混液，适用于高通量测序文库的 PCR 扩增和其他 PCR 相关的克隆和检测。

扩增预混液中的 Ultra HiFi DNA Polymerase 是通过定向分子进化技术开发得到的新型快速高保真 DNA 聚合酶，增强了 DNA 聚合酶对模板的亲合力，使得此酶在扩增速度和延伸能力上得到了提升，增加了 PCR 成功率和产物量。同时，此酶具有优良的 3' - 5' 外切酶活性 (Proofreading 活性)，保真性可达市场上主流产品水平，保证了基因和文库扩增过程中的真实性。此外，本产品中的 DNA 聚合酶具有热启动 (Hot Start) 功能，可有效的控制低温情况下的非特异扩增和酶活损耗，进而保证了 PCR 扩增的特异性和稳定性。除此之外，预混 Mix 中还整合了 PCR 反应增强系统，不但提高了预混 Mix 的稳定性，使得聚合酶对 PCR 反应抑制剂的耐受能力增强，还提高了 Ultra HiFi DNA Polymerase 对不同 GC 含量模板的适应能力，使得本产品具有广泛的样品普适性和模板投入范围，将 PCR 反应的偏好性降至最低。

产品特点

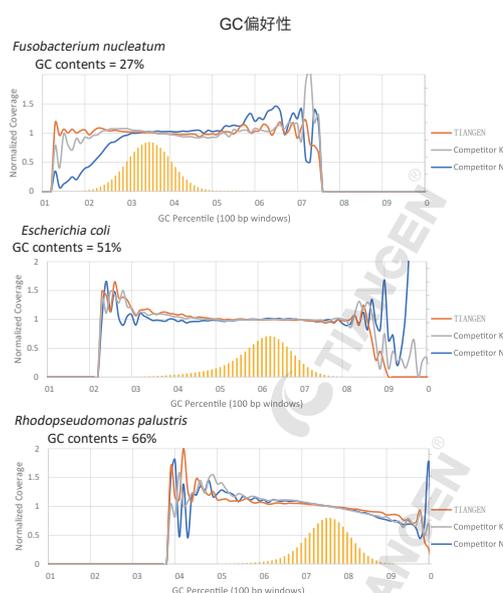
- 高效扩增—保证最终成库量，降低扩增循环数
- 低偏好性—对不同 GC% 的 DNA 模板具有均衡的扩增效率
- 高特异性—真正具有热启动性，特异性强
- 高保真性—保真性为 Taq DNA 聚合酶的 50 倍
- 高灵敏度—模板用量可低至 1 pg

实验例



	Mapped Reads	Percent of Duplication
TIANSeq HiFi Amplification Mix	98.01%	15.29%
Competitor K	98.13%	17.01%
Competitor N	97.41%	14.59%

使用 TIANSeq HiFi 酶和国外 K 公司、N 公司的专门用于 NGS 文库富集的高保真酶同时进行同一基因组 DNA 的文库富集 (基因组使用量为 10 ng), 测序后分析文库覆盖度和重复率。结果显示, TIANSeq HiFi 酶富集文库的覆盖度较高, 重复率满足要求, 文库富集性能与竞品相当。



含片段化功能的快速DNA文库制备方案 (Ion Torrent 平台)

Ion Torrent平台方案基因组DNA文库制备

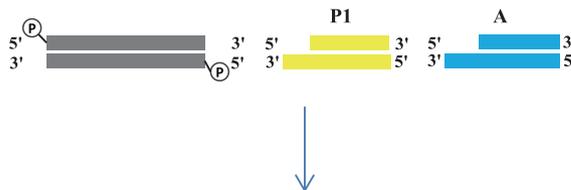
适用样本类型	基因组/大片段DNA
样本用量	1 ng-1 μg

五二代测序文库构建

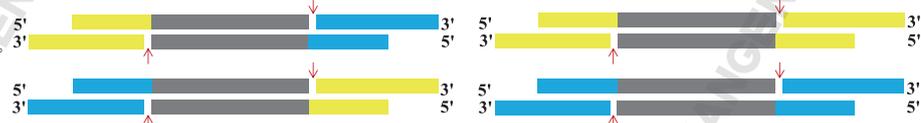
- Step1 DNA片段化/末端修复**
- TIANSeq DNA Fragmentation Module (NG305)对gDNA的片段化是随机进行的,不具有序列偏好或GC偏好性。
可通过NG205、NG203及NG206配合使用完成末端修复操作



- Step2 接头连接及切口平移**
- 向末端修复后的DNA片段两端连接P1和A接头。
可通过NG208和NG201配合使用完成接头连接操作



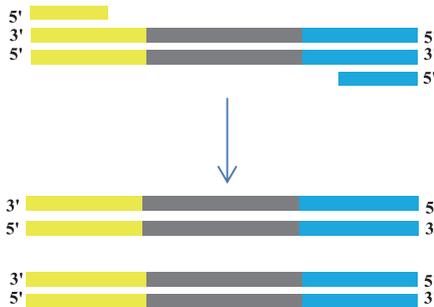
- 连接后形成接口处含有切刻的4种连接产物。注:“↑”切口位置



- 利用DNA聚合酶进行切口平移以补平连接处的切口。

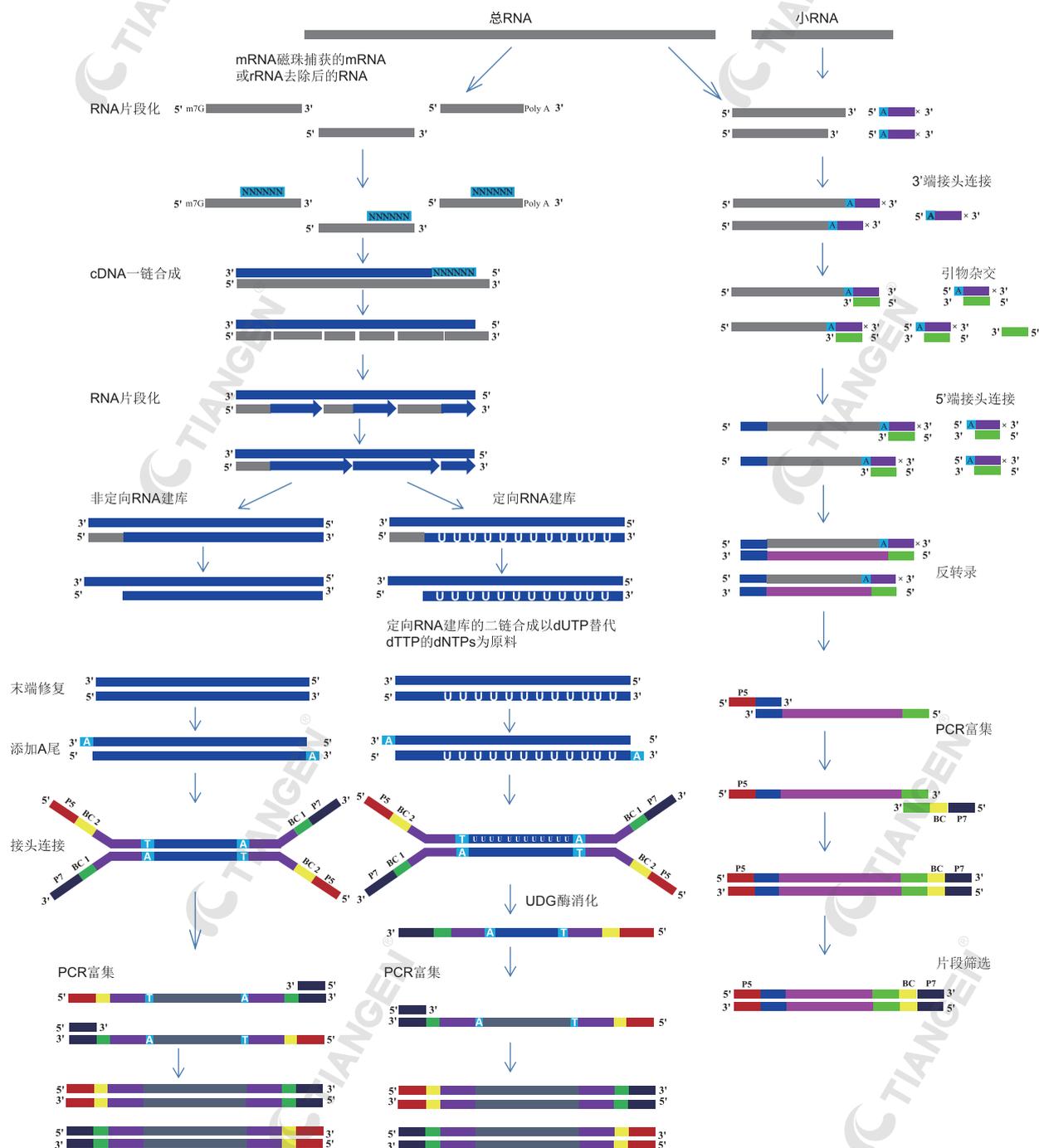


- Step3 PCR富集**
- 利用与接头序列结合的引物对接头连接产物进行扩增。
PCR富集可使用TIANGEN公司的NG304或NG219



产品选择指南-RNA建库篇

二代测序RNA文库的构建，根据RNA的种类主要分为mRNA文库、lncRNA文库、small RNA文库等。mRNA和lncRNA文库构建流程包括RNA富集、RNA片段化、cDNA第一链及第二链的合成、末端修复、A尾添加及PCR富集。RNA富集是mRNA及lncRNA文库构建前的必要步骤，这是因为rRNA在总RNA中占比超过80%，如不进行rRNA去除操作，mRNA及lncRNA文库的测序数据中绝大部分为rRNA的相关数据，不利于全面深入的分析mRNA及lncRNA的表达差异及序列变化。Small RNA文库与mRNA及lncRNA文库的构建流程是不一样的，主要包括3'接头连接及封闭、5'接头连接、cDNA合成、PCR富集。基于Illumina平台的RNA操作流程如下图所示：



RNA建库产品选择指南

RNA富集mRNA富集磁珠 NR105、HRM rRNA去除试剂盒 NR101、磁珠法rRNA去除定制化方案							
mRNA文库构建 lnc RNA文库构建	建库流程	试剂盒		DIY建库方案	建库配套材料		
	RNA片段化	非定向 RNA文库 构建试剂 盒NR102	定向RNA 文库构建 试剂盒 NR103	\	RNA纯化磁珠： NG307 DNA纯化分选磁珠： NG306		
	cDNA第一链合成			NG212/NG209			
	cDNA第二链合成			NG308 注：定向RNA建库 需选用含dUTP的 dNTP			
	末端修复			NG302 NG205 NG203 NG206			
	A尾添加			NG202/NG215		接头 (for Illumina) 单Index	
	接头连接			NG303		NG201	
	PCR富集			NG304		NG219	NG214

Small RNA文库构建	建库流程	DIY建库方案
	3'接头连接	NG210
	5'接头连接	NG213
	cDNA合成	NG212 NG207 NG209
	PCR富集	NG219/NG304

特点	产品名称	目录号	规格	目录价
rRNA去除	TIANSeq核糖体RNA去除试剂盒(人/小鼠/大鼠)	NR101-01	6次	2780元
	TIANSeq rRNA Depletion Kit (H/M/R)	NR101-02	24次	10800元
		NR101-03	96次	33600元
RNA文库构建	TIANSeq快速RNA文库构建试剂盒(Illumina平台)	NR102-01	24次	9780元
	TIANSeq Fast RNA Library Prep Kit (Illumina)	NR102-02	96次	31800元
	TIANSeq定向 RNA文库构建试剂盒(Illumina平台)	NR103-01	24次	10580元
	TIANSeq Stranded RNA-Seq Kit (Illumina)	NR103-02	96次	32800元
核酸纯化	TIANSeq RNA纯化磁珠	NG307-01	5 ml	1580元
	TIANSeq RNA Clean Beads	NG307-02	15 ml	3980元
		NG307-03	60 ml	12080元
双链cDNA合成	TIANSeq RNA片段化/cDNA合成模块	NG308-01	24次	4180元
	TIANSeq RNA Frag/cDNA Synthesis Module	NG308-02	96次	12600元

TIANSeq 快速 RNA 文库构建试剂盒 (Illumina 平台)

TIANSeq Fast RNA Library Prep Kit (Illumina)

— 高效制备 RNA 转录组测序文库

目录号	包装	价格
NR102-01	24 rxn	9780 元
NR102-02	96 rxn	31800 元

产品包装

试剂盒组成	NR102-01	NR102-02
Frag/1st Strand Buffer	120 µl	480 µl
1st Strand Enzyme Mix	36 µl	144 µl
2nd Strand Buffer	204 µl	816 µl
2nd Strand Enzyme Mix	84 µl	336 µl
10×EAR Buffer	120 µl	480 µl
5×EAR Enzyme Mix	240 µl	960 µl
TIANSeq DNA Ligase	240 µl	960 µl
5×Ligation Buffer	480 µl	2×1 ml
2×HiFi PCR Master Mix	600 µl	2×1.2 ml
10×P5/P7 Primers Mix	120 µl	480 µl
Nuclease-Free ddH ₂ O	1 ml	4×1 ml

自备试剂

1. TIANSeq rRNA Depletion Kit (H/M/R) (NR101)
2. TIANSeq Single-Indexed Adapter (Illumina) (NG214-01/02/03)
3. TIANSeq Size Selection DNA Beads (NG306)
4. 无水乙醇

保存条件

试剂盒于 -15~-25°C 保存

产品简介

TIANSeq Fast RNA Library Prep Kit (Illumina) 是针对 Illumina 高通量测序平台开发的非定向转录组文库构建专用试剂盒, 可用于常规转录组分析及 LncRNA 等非编码 RNA 的分析。本试剂盒采用快速一管式的操作流程, 可对 RNA 样本进行快速文库构建, 在双链 cDNA 合成后, 样本的末端修复和 dA 尾添加在一步完成, 所得产物无需纯化即可直接用于接头的连接。此外, 试剂盒采用专门设计的高效高保真聚合酶, 所获得的 PCR 富集产物保真度高、无碱基偏好性。

试剂盒所适用的起始样本为将总 RNA 中的 rRNA 去除的 RNA (保留了 mRNA 和其他的非编码 RNA) 或者从总 RNA 中直接分离获得的 mRNA。总 RNA 样本的起始模板量为 10 ng~1 µg; mRNA 样本的起始模板量低至 500 pg。

产品特点

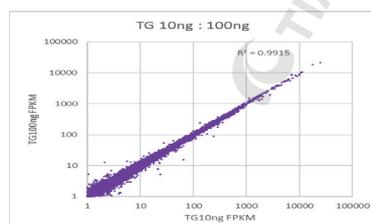
- 可针对 mRNA 和除 rRNA 外的非编码 RNA (如 lncRNA) 进行转录组分析。
- 操作流程简便, 可实现 RNA 样本的快速文库构建。
- 文库转化率高, 适用于极低起始量样本文库的高效转化。
- PCR 富集过程中保真度高, 不存在碱基偏好性。

下游应用

适用范围: 适用于 Illumina 高通量测序平台 RNA 文库的构建。
适用样本量: 10 ng ~ 1 µg 的总 RNA; 低至 500 pg 起始的动、植物及真菌等的 mRNA。

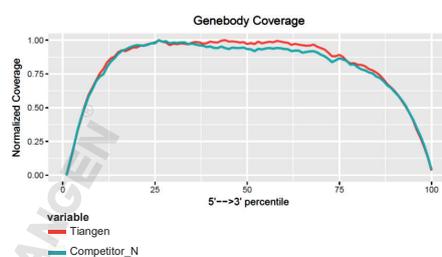
实验例

宽广的起始量适用范围



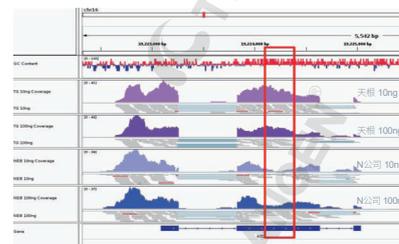
不同样本起始量之间 FPKM (Exon, 5' UTR and 3' UTR fragments) 之间的线性关系

转录本读序分布均一, 5'-3' 的偏好性小



用 GeneBody Coverage 分析, 天根产品 5'-3' Coverage 均一性好

对于高 GC 区域无明显偏好



高 GC 区域偏好性分析, 大鼠 Kif2 (NM_00107684) 基因, GC 含量 66.1%。红色方框内是该基因 GC 含量高的区域。

TIANSeq 定向 RNA 文库构建试剂盒 (Illumina 平台) NEW

TIANSeq Stranded RNA-Seq Kit (Illumina)

——可用于定向 RNA 建库使用

目录号	包装	价格
NR103-01	24 rxn	10580 元
NR103-02	96 rxn	32800 元

产品包装

试剂盒组成	NR103-01	NR103-02
Frag/1st Strand Buffer	120 μ l	480 μ l
RNA Synthesis Inhibitor (5 mg/ml)	24 μ l	96 μ l
1st Strand Enzyme Mix	40 μ l	160 μ l
2nd Strand Labeling Buffer	240 μ l	960 μ l
2nd Strand Enzyme Mix	90 μ l	360 μ l
10 \times ERA Buffer	120 μ l	480 μ l
5 \times ERA Enzyme Mix	240 μ l	960 μ l
TIANSeq DNA Ligase	240 μ l	960 μ l
5 \times Ligation Buffer	500 μ l	2 \times 1 ml
Heat-labile UDG	24 μ l	96 μ l
2 \times HiFi PCR Master Mix	600 μ l	4 \times 600 μ l
P5/P7 Primers Mix	120 μ l	480 μ l
Nuclease-Free ddH ₂ O	2 \times 1 ml	8 \times 1 ml

保存条件

- TIANSeq rRNA Depletion Kit (H/M/R) (NR101)-20 $^{\circ}$ C 保存, 避免反复冻融。
- TIANSeq Single-Index Adapter (Illumina) (NG214) -20 $^{\circ}$ C 保存, 避免反复冻融。
- TIANSeq Size Selection DNA Beads (NG306)2-8 $^{\circ}$ C。

下游应用

适配于 Illumina 平台的定向 mRNA 建库测序及 lncRNA 建库测序。

产品简介

TIANSeq Stranded RNA-Seq Kit (Illumina) 是针对 Illumina 高通量测序平台开发的链特异性转录组文库构建专用试剂盒。本试剂盒采用快速一管式的操作流程, 可对 RNA 样本进行快速文库构建, 在双链 cDNA 合成后, 样本的末端修复和 dA 尾添加一步完成, 所得产物无需纯化即可直接用于接头的连接。此外, 试剂盒采用专门设计的高效高保真聚合酶, 所获得的 PCR 富集产物保真度高、无碱基偏好性。试剂盒所适用的起始样本为去除 rRNA 的总 RNA (保留了 mRNA 和其他的非编码 RNA) 或者从总 RNA 中直接分离获得的 mRNA。总 RNA 样本的起始模板量为 10 ng~1 μ g; mRNA 样本的起始模板量低至 1 ng。适用范围: 适用于 Illumina 高通量测序平台 RNA 文库的构建。适用样本量: 10 ng~1 μ g 的总 RNA; 低至 1 ng 起始的动植物及真菌的 mRNA。

产品特点

- 可针对 mRNA 和除 rRNA 外的非编码 RNA (如 lncRNA) 进行链特异性转录组分析。
- 操作流程简便, 可实现 RNA 样本的快速文库构建。
- 文库转化率高, 适用于极低起始量样本文库的高效转化。
- PCR 富集过程中保真度高, 不存在碱基偏好性。

实验例

成库量比较

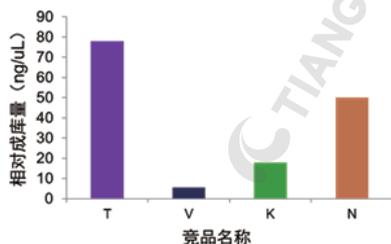


图 1. 以 1 μ g 人 293 T Cell 的总 RNA 为建库样本, NR103 定向 RNA 建库试剂盒的成库量明显高于 V 公司、K 公司及 N 公司的同类产品。

转录本覆盖度均匀

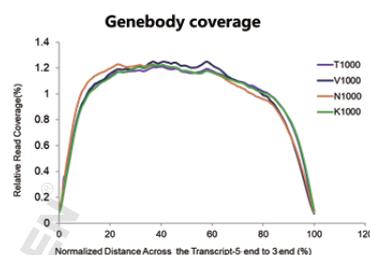


图 2. 以 1 μ g 人 293 T Cell 的总 RNA 为样本, NR103 定向 RNA 文库试剂盒的建库测序数据表明转录本从 5' 端至 3' 端具有高度均匀的覆盖度, 优于 V 公司, 与 N 公司及 K 公司产品性能相当。

不同样本起始量的文库间一致性高

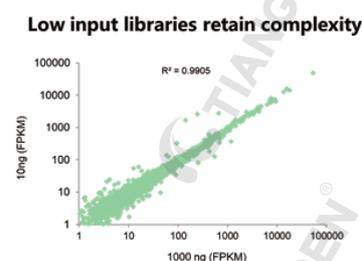


图 3. NR103 定向 RNA 文库试剂盒兼容 10 ng-1 μ g 总 RNA 起始量, 不同起始量下所构建的文库一致性高。以人 293 T Cell 细胞为测试样本, 数据显示, 在 10 ng 和 1 μ g 的总 RNA 起始量下, 文库间基因表达量检测相关系数达到 0.99 以上, 数据一致性高。

TIANSeq 核糖体 RNA 去除试剂盒 (人 / 小鼠 / 大鼠)

TIANSeq rRNA Depletion Kit (H/M/R)

——快速高效突出核糖体 RNA，提高有效测序数据比例

目录号	包装	价格
NR101-01	6 rxn	2780 元
NR101-02	24 rxn	10080 元
NR101-03	96 rxn	32600 元

产品包装

试剂盒组成	NR101-01	NR101-02	NR101-03
Ribo Hybridization Probe(H/M/R)	18 μ l	72 μ l	4 \times 72 μ l
5 \times Hybridization Buffer	18 μ l	72 μ l	4 \times 72 μ l
Ribo RNase H	18 μ l	72 μ l	4 \times 72 μ l
10 \times RNase H Buffer	12 μ l	48 μ l	4 \times 48 μ l
Ribo DNase I	18 μ l	72 μ l	4 \times 72 μ l
10 \times DNase I Buffer	30 μ l	120 μ l	4 \times 120 μ l
RNase-Free ddH ₂ O	1 ml	2 \times 1 ml	8 \times 1 ml
rRNA Primer Mix	12 μ l	48 μ l	4 \times 48 μ l
mRNA Primer Mix	12 μ l	48 μ l	4 \times 48 μ l

自备试剂

TIANSeq RNA Clean Beads (TIANGEN Cat#NG307)
乙醇

保存条件

试剂盒于 -15~-25 $^{\circ}$ C 保存

下游应用

适用范围：适用于 RNA 转录组文库的构建，也可用于随机引物 cDNA 合成或其它下游应用
适用样本量：100 ng ~ 1 μ g DNA

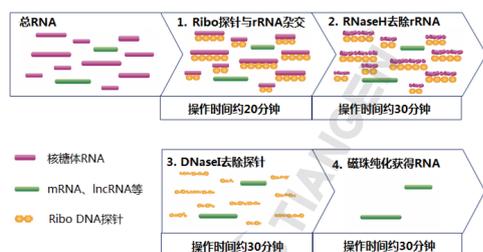
产品简介

TIANSeq rRNA Depletion Kit (H/M/R) 采用特殊设计的 DNA 探针与核糖体 RNA(rRNA) 杂交，随后利用 Ribo RNase H 降解 DNA-rRNA 杂交链中的 rRNA，从而去除人、小鼠、大鼠总 RNA 中的细胞质核糖体 RNA(28S、18S、5.8S、5S) 和线粒体内核糖体 RNA(16S、12S)，保留信使 RNA(mRNA) 和其它非编码 RNA。
该试剂盒对于完整和部分降解的总 RNA(如 FFPE RNA) 均具有良好的 rRNA 去除效果，所获得的去除了 rRNA 的 RNA 样本可用于 mRNA 和非编码 RNA 高通量测序，可显著提高测序结果中有效数据比例，纯化产物也可用于随机引物 cDNA 合成或其它下游应用。

产品特点

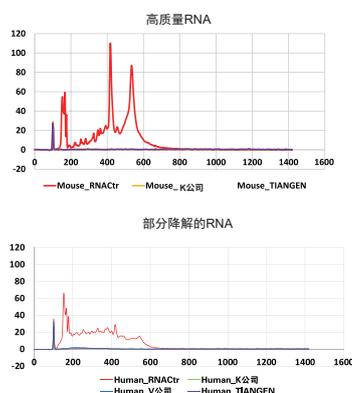
- 样本广泛：适用于高质量(完整)及部分降解(如 FFPE) 样本中 rRNA 的去除。
- 高效去除：有效去除 95~99.9% 的人 / 小鼠 / 大鼠的 rRNA。
- 数据全面：保留了不完整 mRNA 和非编码 RNA 信息，使转录组数据更加全面。
- 快速评估：试剂盒中提供的引物可快速评估 rRNA 的去除效果。

操作流程

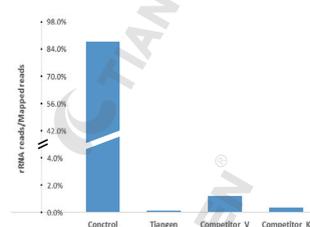


实验例

Agilent 2100 结果显示对于高质量(完整)及部分降解样本中 rRNA 去除均彻底



NGS 测序结果显示 rRNA 去除彻底



小鼠肝脏总 RNA 测序后进行分析，在使用试剂盒去除前 Control 组 rRNA 的 reads 占 Mapped reads 总数 85% 以上，TIANGEN 产品去除后 rRNA 的 reads 占比小于 0.2%。

TIANSeq mRNA 捕获试剂盒

TIANSeq mRNA Capture Kit

NEW

——专一捕获真核生物 mRNA

目录号	包装	价格
NR105-01	24 rxn	800 元
NR105-02	96 rxn	2888 元

产品包装

试剂盒组成	NR105-01 (24 rxn)	NR105-02 (96 rxn)
磁珠结合缓冲液 TM	6 ml	24 ml
磁珠漂洗缓冲液 TD	12 ml	48 ml
mRNA 捕获磁珠	240 μ l	960 μ l
无核酸酶双蒸水	15 ml	15 ml

产品简介

TIANSeq mRNA capture Kit 采用特殊设计偶联 Oligo (dT) 的磁珠专一性的捕获信使 RNA (mRNA)，经过磁珠漂洗缓冲液洗涤去除非特异结合的非 mRNA，能够获得人、小鼠、大鼠、植物总 RNA 中完整的 mRNA。

该试剂盒对于完整的总 RNA 均具有良好的 mRNA 捕获效果，所获得的 mRNA 可用于高通量测序，可显著提高测序结果中有效数据比例。此外，纯化的 mRNA 也可用于随机引物 cDNA 合成或其它下游应用。

保存条件

4°C 保存，保质期为一年。

自备试剂

磁力架、rRNA 引物、mRNA 引物、qPCR 定量试剂。

产品特点

- 样本广泛：适用于高质量（完整）样本中 mRNA 的捕获，建议 RNA 的 RIN > 7。
- 数据全面：保留了完整的 mRNA 信息，提高转录组数据的有效性。
- 适用范围广：适用于 100 ng-1 μ g 的 RNA 的捕获。

下游应用

mRNA 建库及 mRNA-Seq。

实验例

	人	小鼠	水稻
rRNA reads	67032	419608	765126
Total reads	37341770	40876772	50931136
Mapping reads	35104026	38669668	47725306
Dup reads	9881808	18834328	15320980
rRNA(%)	0.190952	1.085	1.502276
Mapping rate(%)	94.007397	94.6	93.705559

表 1. 使用 TIANSeq mRNA 捕获试剂盒 (NR105) 捕获起始量为 500 ng 的人、小鼠和水稻总 RNA 中的 mRNA，后续使用 TIANSeq 快速 RNA 文库构建试剂盒 (NR102) 进行建库测序所得数据分析表明，三类样本的 rRNA 残留量低于 2%，整体测序数据质量好。

TIANSeq RNA 纯化磁珠

TIANSeq RNA Clean Beads

——高效去除反应体系中杂质，获得高纯 RNA

目录号	包装	价格
NG307-01	5 ml	1580 元
NG307-02	15 ml	3980 元
NG307-03	60 ml	12080 元

产品包装

试剂盒组成	NG307-01	NG307-02	NG307-03
磁珠结合液 RM	5 ml	15 ml	4 × 15 ml
无核酸酶 ddH ₂ O	15 ml	15 ml	4 × 15 ml

下游应用

试剂盒可广泛应用于分子生物学实验体系中的 RNA 纯化，如核糖体去除过程后的 RNA 回收及纯化、逆转录等。

自备试剂

无水乙醇

保存条件

试剂盒于 2 ~ 8°C 保存

产品简介

TIANSeq RNA 纯化磁珠是一款可以用于 RNA 的纯化和回收的一款核酸产品。该试剂盒基于表面修饰的磁珠能够与核酸特异结合的原理，采用高性能磁珠和独特缓冲液体系，可有效去除反应体系中盐离子及有机杂质等。试剂盒使用操作简便、流程快速，所得 RNA 完整性好、纯度高。

产品特点

- 简便：简便快速的操作流程，快速获得高纯度 RNA；
- 高效：高效纯化 RNA，纯化回收效率可达 90%，所得 RNA 完整性好；
- 兼容：兼容手工操作或自动化工作站的高通量操作。

TIANSeq RNA 片段化及 cDNA 合成模块

TIANSeq RNA Frag/cDNA Synthesis Module

——精准 mRNA 片段化及高效 cDNA 合成

目录号	包装	价格
NG308-01	24 rxn	4180 元
NG308-02	96 rxn	12600 元

产品包装

试剂盒组成	NG308-01	NG308-02
Frag/1st Strand Buffer	120 μl	480 μl
1st Strand Enzyme Mix	40 μl	160 μl
2nd Strand Buffer	240 μl	960 μl
2nd Strand Enzyme Mix	90 μl	360 μl
Nuclease-Free ddH ₂ O	2 × 1 ml	8 × 1 ml

产品特点

- 样本广泛：既可针对 mRNA，也可针对去除 rRNA 的 RNA 进行片段化及双链 cDNA 合成；
- 高效转化：优化的反应体系保证产品的稳定性及高效的双链 cDNA 合成效率；
- 操作简便：集成化的反应流程，简化操作步骤；
- 兼容性好：试剂盒反应产物双链 cDNA 经纯化可直接用于 RNA-Seq 文库的构建。

产品简介

TIANSeq RNA Frag/cDNA Synthesis Module 是匹配 Illumina 高通量测序平台下非定向 RNA 文库构建中 RNA 的片段化及 cDNA 合成的模块，进行双链 cDNA 的合成反应。

本试剂盒适用的起始样本既可为从总 RNA 中去除 rRNA 的 RNA，也可为从总 RNA 中直接分离获得的 mRNA。本试剂盒包括 RNA 片段化及第一链、第二链 cDNA 合成的全套酶和反应缓冲液，精心优化的反应体系具有高效的逆转录活性及 cDNA 合成效率，并具有良好的实验兼容性。

适用范围：适用于 Illumina 高通量测序平台 RNA 文库构建中 RNA 的片段化及双链 cDNA 的合成反应。

适用样本量：10 ng~1 μg 的总 RNA；低至 (500 pg) 起始的动植物及真菌的 mRNA。

下游应用

mRNA 文库构建。

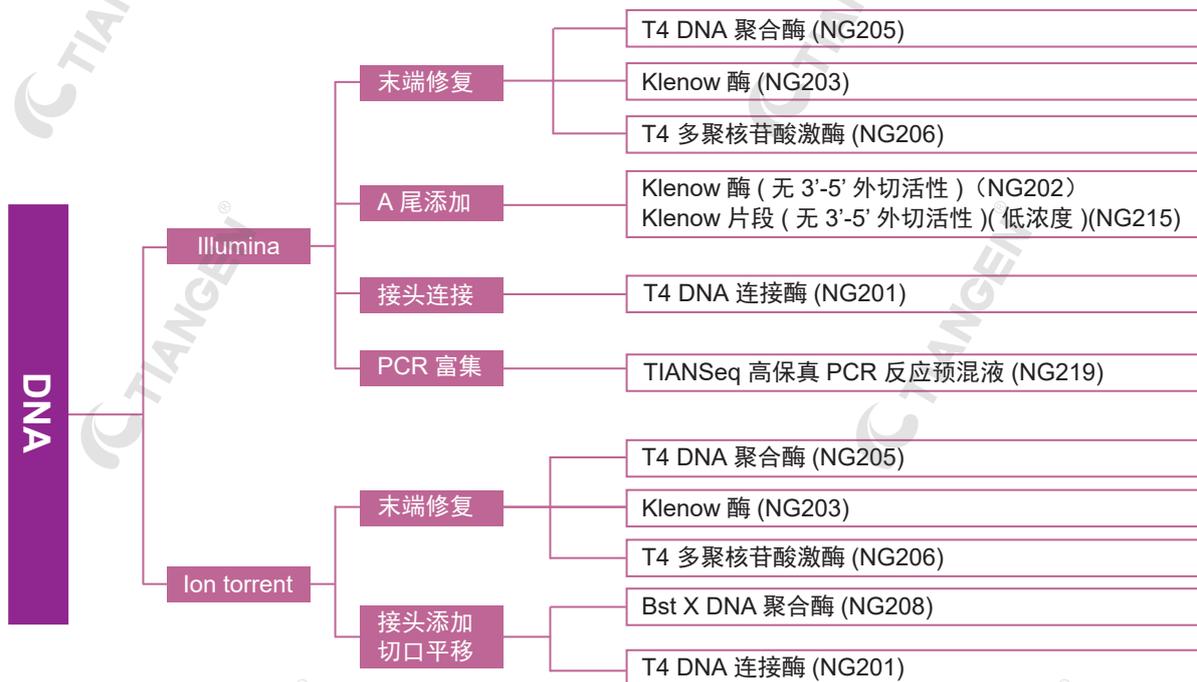
自备试剂

DNA 纯化磁珠

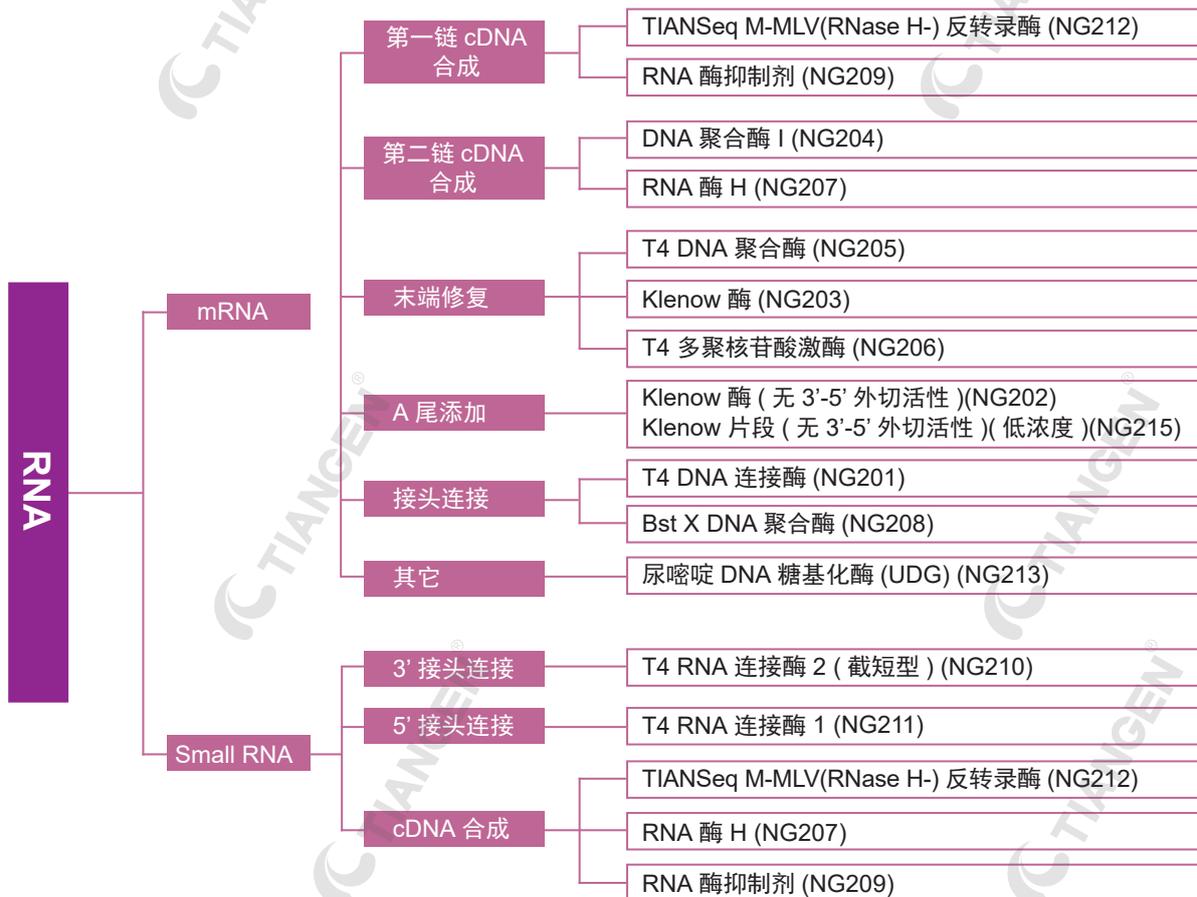
保存条件

试剂盒于 2 ~ 8°C 保存

DNA 文库构建所需酶类产品选择指南



RNA 文库构建所需酶类产品选择指南



DNA/RNA文库构建所需原料产品

产品名称	目录号	规格(U)	目录价
T4 DNA连接酶 (快速)	NG201-01	24000 U	720 元
	NG201-02	240000 U	4380元
Klenow酶(无3'-5'外切活性)	NG202-01	1500 U	760元
	NG202-02	10000 U	3350元
Klenow酶	NG203-01	500 U	1000 元
	NG203-02	2500 U	3080 元
DNA聚合酶 I	NG204-01	500 U	500 元
	NG204-02	5000 U	3080 元
T4 DNA聚合酶	NG205-01	300 U	780元
	NG205-02	2000 U	3080元
T4 多聚合核苷酸激酶	NG206-01	1500 U	850元
	NG206-02	10000 U	4580 元
RNA酶 H	NG207-01	500 U	500 元
	NG207-02	5000 U	3080 元
Bst X DNA 聚合酶	NG208-01	8000 U	980元
	NG208-02	40000 U	4380元
RNase抑制剂	NG209-01	4000 U	670 元
	NG209-02	20000 U	3080 元
T4 RNA连接酶2 (截短型)	NG210-01	500 U	3800元
T4 RNA连接酶1	NG211-01	1500 U	780元
	NG211-02	10000 U	3800元
TIANSeq M-MLV(RNase H-) 反转录酶	NG212-01	10000 U	1080元
尿嘧啶 DNA 糖基化酶(UDG)	NG213-01	1000 U	508 元
	NG213-02	10000 U	3080 元
TIANSeq 单索引接头 (Illumina)	NG214-01 (SetA)	12×40 μl	12800元
	NG214-02 (SetB)	12×40 μl	12800元
	NG214-03 (SetA+B)	24×40 μl	24800 元
Klenow片段(无3'-5'外切活性)(低浓度)	NG215-01	2500 U	1180 元
	NG215-02	10000 U	3150 元
25 mM dNTPs预混液	NG217-01	1 ml	780 元
	NG217-02	5×1 ml	3780元
TIANSeq高保真PCR反应预混液	NG219-01(含染)	1 ml	600元
	NG219-02(含染)	5×1 ml	2800元
	NG219-11	1 ml	600元
	NG219-12	5×1 ml	2800元
FEA增强剂 FEA Enhancer	NG224-01	120 μl	50元
	NG224-02	480 μl	100元
10×文库稀释缓冲液	NG223-01	1 ml	80元
P5/P7引物预混液(10 μM each)	NG221-01	24 rxn	120元
	NG221-02	96 rxn	380元
10×蓝色缓冲液	NG220-01	0.5 ml	180元
	NG220-02	1.5 ml	540元

T4 DNA 连接酶 (快速)

TIANSeq T4 DNA Ligase (Rapid)

——快速、高效的 DNA 连接酶

目录号	包装	价格
NG201-01	24000 U	720 元
NG201-02	240000 U	4380 元

产品包装

试剂盒组成	NG201-01	NG201-02
T4 DNA Ligase(600 U/μl)	24000 U	240,000 U
5×Rapid Ligation Buffer	500 μl	2×1 ml
10×Ligation Buffer	200 μl	2×1 ml

保存条件

试剂盒于 -15~-25℃保存，避免反复冻融

适用范围

1. 在二代测序 (NGS) 应用中，主要用于文库构建过程中的接头连接；
2. DNA 片段与载体的连接；
3. 其他需要进行双链核酸连接的实验。

产品简介

T4 DNA Ligase 在 ATP 作为辅助的情况下，可以特异性催化双链 DNA 或者双链 RNA 的 5' 磷酸和 3' 羟基之间形成磷酸二酯键。本产品对与粘性末端和平末端的双链核酸片段均有较高的连接活性，同时，对于双链 DNA，双链 RNA 或者 DNA-RNA 杂交链中的缺刻 (Nick) 也有修复作用。但是本产品无法催化单链核酸之间的连接。

产品特点

- 酶活性高：酶比活性高，反应重复性好。
- 连接快速：10 min 即可完成连接反应，省时省力。
- 适用性广：无论是粘性末端还是平末端，本产品均有较高的连接活性；无论是 DNA 连接还是 RNA 连接，本产品都有很好的适用性。

Klenow 酶 (无 3'-5' 外切活性)

TIANSeq Klenow(3'-5'exo-)

——聚合活性更强，高效添加 dA 反应

目录号	包装	价格
NG202-01	1500 U	760 元
NG202-02	10000 U	3350 元

产品包装

试剂盒组成	NG202-01	NG202-02
Klenow (3'-5' exo-)	1500 U	10000 U
10×Blue Buffer	500 μl	2×1.5 ml

保存条件

试剂盒于 -15~-25℃保存

适用范围

1. 在二代测序 (NGS) 应用中，主要用于文库构建过程中平端双链 DNA 片段的加 "A" 反应。
2. 双脱氧法 DNA 序列测定 (Sanger 法)。

产品简介

Klenow (3'-5' exo-) 是 DNA Klenow Fragment 的突变酶。该酶在模板和引物存在的条件下，以 dNTP 作底物，沿 5'-3' 方向催化与模板互补 DNA 的合成。通过点突变改造，使本酶同时失去了 3'-5' 外切核酸酶的活性和切刻平移活性。本产品是通过大肠杆菌表达的重组酶。分子量大小约为 68.1 kDa。

产品特点

- 通过点突变改造使得本酶的 5' -3' 聚合酶活性更强。
- 酶比活性高，稳定性好，与其他酶兼容能力强。

Klenow 酶

TIANSeq Klenow

——酶活性高兼容性好的高纯度重组表达蛋白

目录号	包装	价格
NG203-01	500 U	1000 元
NG203-02	2500 U	3080 元

产品包装

试剂盒组成	NG203-01	NG203-02
Klenow	500 U	2,500 U
10×Blue Buffer	500 μl	1.5 ml

保存条件

试剂盒于 -15~-25℃保存

适用范围

1. 在二代测序（NGS）应用中，主要用于文库构建过程中双链 DNA 片段的平端化处理。
2. 寡核苷酸定向诱变中双链 DNA 的合成。
3. 使用随机引物进行 DNA 标记。
4. 双脱氧法 DNA 序列测定（Sanger 法）。

产品简介

Klenow Fragment 是 DNA Polymerase I 的截短酶。该酶在模板和引物存在的条件下，以 dNTP 作底物，沿 5'-3' 方向催化与模板互补 DNA 的合成，同时本酶还具有 3'-5' 外切核酸酶的活性。通过截短改造，使本酶失去了 5'-3' 外切核酸酶的活性。本产品是通过大肠杆菌表达的重组酶，是 Pol A 基因截短型表达产物。分子量大小约为 68.2 kDa。

产品特点

- 缺失了 5'-3' 外切核酸酶的活性。
- 酶比活性高，稳定性好，与其他酶兼容能力强。

DNA 聚合酶 I

TIANSeq DNA Polymerase I

——酶活性高兼容性好的高纯度重组表达蛋白

目录号	包装	价格
NG204-01	500 U	500 元
NG204-02	5000 U	3080 元

产品包装

试剂盒组成	NG204-01	NG204-02
DNA Polymerase I	500 U	5,000 U
10×Blue Buffer	500 μl	1.5 ml

保存条件

试剂盒于 -15~-25℃保存

适用范围

1. 在二代测序（NGS）应用中，主要用于 mRNA 测序文库构建过程中 cDNA 第二链的合成。
2. 与 DNase I 或者 RNase H 一起使用，进行切刻平移反应。

产品简介

DNA Polymerase I 在模板和引物（DNA 或 RNA）存在的条件下，以 dNTP 作底物，沿 5'-3' 方向催化与模板互补 DNA 的合成。同时本酶还具有 5'-3' 外切核酸酶活性以及 3'-5' 外切核酸酶的活性。另外，本酶可催化切刻平移反应。本产品来源于含有 PolA 基因的大肠杆菌重组菌株。分子量大小约为 103.1 kDa。

产品特点

- 可催化切刻平移反应。
- 酶比活性高，稳定性好，与其他酶兼容能力强。

T4 DNA 聚合酶

TIANSeq T4 DNA Polymerase

——校正能力更强，酶活性高的高纯度重组表达蛋白

目录号	包装	价格
NG205-01	300 U	780 元
NG205-02	2000 U	3080 元

产品包装

试剂盒组成	NG205-01	NG205-02
T4 DNA Polymerase	300 U	2,000 U
10×Blue Buffer	500 μl	1.5 ml

保存条件

试剂盒于 -15~-25℃ 保存

适用范围

1. 在二代测序（NGS）应用中，主要用于文库构建过程中双链 DNA 片段的平端化处理。
2. 利用较强的 3'-5' 的外切核酸酶活性，通过置换合成从 DNA 片段 3' 末端进行标记。
3. 通过引物延伸法解析 mRNA 转录的起始点。

产品简介

在模板及引物存在的条件下 T4 DNA Polymerase 可特异性催化 DNA 的 5'-3' 聚合反应。另外，本产品对单链 DNA 分子具有极强的 3'-5' 外切酶活性，但不具有 5'-3' 外切酶活性。本产品来源于含有 T4 DNA 聚合酶基因的大肠杆菌重组菌株。分子量大小约为 103.6 kDa。

产品特点

- 具有较强的 3'-5' 外切酶活性，约为 Klenow 片段的 100 ~ 1000 倍。
- 酶比活性高，稳定性好，与其他酶兼容能力强。

T4 多聚合核苷酸激酶

TIANSeq T4 Polynucleotide Kinase

——酶活性高，稳定性好，高纯度重组表达蛋白

目录号	包装	价格
NG206-01	1500 U	850 元
NG206-02	10000 U	4580 元

产品包装

试剂盒组成	NG206-01	NG206-02
T4 Polynucleotide Kinase	1,500 U	10,000 U
10×T4 Polynucleotide Kinase Buffer	450 μl	2×1.5 ml

保存条件

试剂盒于 -15~-25℃ 保存

适用范围

1. 在二代测序（NGS）应用中，主要用于文库构建过程中末端修饰中的 5' 磷酸化修饰。
2. DNA 及 RNA 5' 末端的标记。

产品简介

T4 多聚合核苷酸激酶（T4 PNK）可催化 ATP 分子上 γ 位磷酸基团向单链、双链 RNA 分子和 DNA 分子的 5'-羟基末端上转移以及向 3'-单磷酸盐分子上转移。T4 PNK 同时具有 3' 磷酸酶和 2',3'-环磷酸二酯酶活性。本产品来源于含有 T4 多聚核苷酸激酶基因表达质粒的大肠杆菌菌株。分子量大小约为 34.6 kDa。

产品特点

- 特异性催化 ATP 分子上 γ 位磷酸基团转移；
- 蛋白比活性高，稳定性好。

RNA 酶 H

TIANSeq RNase H

——特异高效的水解 DNA-RNA 杂交链中的 RNA 酶

目录号	包装	价格
NG207-01	500 U	500 元
NG207-02	5000 U	3080 元

产品包装

试剂盒组成	NG207-01	NG207-02
RNAse H	500 U	5,000 U
10×RNAse H Buffer	300 μl	2×1.5 ml

保存条件

试剂盒于 -15~-25°C 保存

适用范围

- 在二代测序 (NGS) 应用中, 主要用于 RNA 文库构建过程中 cDNA 第二链的合成。
- 在 cDNA 第二链合成时除去 mRNA。

产品简介

RNAse H 是特异性分解 RNA-DNA 杂交体中的 RNA 链的核糖核酸内切酶, 而对单链和双链 RNA 分子则几乎没有活性。经 RNAse H 水解后的产物具有 5'-P 和 3'-OH 末端。本产品是通过大肠杆菌表达的重组酶。

产品特点

- 特异性水解 RNA-DNA 杂交体中的 RNA 链。
- 几乎没有单链、双链 RNA 分子和 DNA 分子的水解活性。
- 蛋白比活性高, 稳定性好。

Bst X DNA 聚合酶

TIANSeq Bst X DNA Polymerase

——具有高效链置换活性及保真性的 DNA 聚合酶

目录号	包装	价格
NG208-01	8000 U	980 元
NG208-02	40000 U	4380 元

产品包装

试剂盒组成	NG208-01	NG208-02
Bst X DNA Polymerase	8,000 U	40,000 U
10×Bst X Reaction Buffer	1.5 ml	5×1.5 ml
100 mM MgSO ₄ Solution	1.5 ml	5×1.5 ml

保存条件

试剂盒于 -15~-25°C 保存

适用范围

- 在二代测序 (NGS) 应用中, 主要用于文库构建过程中的链等温置换反应。比如 Ion Torrent 平台 DNA 文库构建中的接头切割平移。
- 其他等温扩增实验。

产品简介

Bst X DNA 聚合酶是从 *Geobacillus* 中克隆得到的耐热 DNA 聚合酶。本产品缺失了 5'-3' 和 3'-5' 的核酸外切酶活性, 比传统链置换酶 (Manta 1.0) 具有更强的链置换活性, 从而使得本产品在等温扩增实验中的表现更加的出色。本产品是通过大肠杆菌表达的重组酶。分子量大小约为 66.5 kDa。

产品特点

- 热稳定性高, 最适反应温度为 60~70°C。
- 抗逆性好, 对非离子表面活性剂和高盐环境的耐受性高。
- 链置换活性高, 无核酸外切酶活性。

RNase 抑制剂

TIANSeq RNase Inhibitor

—高效抑制 RNA 酶活性

目录号	包装	价格
NG209-01	4000 U	670 元
NG209-02	20000 U	3080 元

产品包装

试剂盒组成	NG209-01	NG209-02
RNase Inhibitor	4,000 U	20,000 U

保存条件

试剂盒于 -15~-25℃ 保存

适用范围

1. 在二代测序 (NGS) 应用中, 主要用于 RNA 文库构建过程中 cDNA 第一链的合成。
2. 在 cDNA 合成、体外转录和体外翻译中保护 mRNA。
3. 可以增加多核糖体的活性、产量; 利于病毒的体外复制。
4. 用于制备无 RNase 的蛋白产品, 如抗体。

产品简介

本产品对胰腺类核糖核酸酶 (比如 RNase A, RNase B 和 RNase C) 具有强烈的非竞争性抑制作用。本品为来源于猪的 RNase Inhibitor 基因与 22.5 kD 蛋白标签基因的融合表达产物, 分子量大小为 52 kDa, 通过大肠杆菌重组表达。

产品特点

- RNase Inhibitor 能够抑制胰腺类核糖核酸酶 RNase A、RNase B 和 RNase C 的活性。
- 该产品不抑制 RNase H, S1 核酸酶, SP6, T7 和 T3 RNA 聚合酶, AMV 或 M-MLV 反转录酶, Taq DNA 聚合酶, RNase T1, 不影响后续的反转录及蛋白质翻译过程。

T4 RNA 连接酶 2(截短型)

TIANSeq T4 RNA Ligase 2, Truncated

—高效、特异的 RNA 连接酶

目录号	包装	价格
NG210-01	500 U	3800 元

产品包装

试剂盒组成	NG210-01
T4 RNA Ligase 2, Truncated	500 U
10×T4 RNA Ligase 2, Truncated Buffer	1.5 ml

保存条件

试剂盒于 -15~-25℃ 保存

适用范围

1. 在二代测序 (NGS) 应用中, 主要用于 miRNA 文库构建中 RNA 的 3' 端接头的连接。
2. 5'-P 腺苷化的 DNA 或者 RNA 标签与任何种类 RNA 的 3' 端连接。

产品简介

T4 RNA 连接酶 2 (截短型) 可特异性催化 5'-P 腺苷化的 DNA 或 RNA 与 RNA 的 3'-OH 连接。本产品不需 ATP 来发挥活性, 但需要供体底物的 5'-P 腺苷化。通过对野生型蛋白的截短改造, 使得本产品失去了对非腺苷化 5'-P 的 DNA 或 RNA 与 RNA 3' 羟基的连接活性, 因此, 如果供体 5'-P 进行腺苷化修饰, 那么应用本产品可特异性的将其连接到受体 RNA 的 3' 端, 从而可最大限度的减少非目标连接产物的背景。本产品通过大肠杆菌重组表达。包含野生型蛋白的 N 端 249 个氨基酸残基, 分子量约为 30.5 kDa。

产品特点

- 特异的催化 5'-P 腺苷化的 DNA 或 RNA 与 RNA 3'-OH 的高效连接, 背景更低
- 蛋白比活性高, 稳定性好

T4 RNA 连接酶 1

TIANSeq T4 RNA Ligase 1

— 高效催化单链 RNA 分子间的连接

目录号	包装	价格
NG211-01	1500 U	780 元
NG211-02	10000 U	3800 元

产品包装

试剂盒组成	NG211-01	NG211-02
T4 RNA Ligase 1	1,500 U	10,000 U
10×T4 RNA Ligase1 Buffer	250 µl	1.5 ml

保存条件

试剂盒于 -15~-25°C 保存

适用范围

1. 在二代测序 (NGS) 应用中, 主要用于 miRNA 文库构建中的 5' 端接头的连接。
2. 单链 RNA 分子之间的连接。

产品简介

T4 RNA 连接酶 1 是 ATP 依赖型的单链核酸分子 (RNA 或 DNA) 连接酶。连接效率受供体和受体各自的碱基影响。DNA 与 RNA 之间的连接效率较 RNA 之间的连接效率低, DNA 之间的连接效率最低。本产品来源于含有 T4 噬菌体 RNA 连接酶基因表达质粒的大肠杆菌菌株。该酶分子量约为 43.5 kDa。

产品特点

- 催化单链 RNA 分子之间的高效率连接。
- 蛋白比活性高, 稳定性好。

TIANSeq M-MLV(RNase H-) 反转录酶

TIANSeq M-MLV (RNase H-)

— 高纯度、高效重组反转录酶

目录号	包装	价格
NG212-01	10000 U	1080 元

产品包装

试剂盒组成	NG212-01
TIANSeq M-MLV (200 U/µl)	2×25 µl
5×M-MLV RT Buffer	2×150 µl
DTT (100 mM)	100 µl

保存条件

试剂盒于 -15~-25°C 保存

适用范围

1. 在二代测序 (NGS) 应用中, 用于 RNASeq 文库构建过程中 cDNA 第一链的合成;
2. 全长 cDNA 第一链合成;
3. cDNA 文库的构建;
4. 一步法 RT-PCR;
5. RACE 分析。

产品简介

TIANSeq M-MLV 是一种没有 RNase H 活性的 RNA 依赖的 DNA 聚合酶。可以催化以 RNA 或 DNA-RNA 杂交链为模板的互补 DNA 的聚合反应。本酶的 RNase H 结构域经过点突变分子改造, 从而实现了该酶 RNase H 活性的缺失, 这种分子改造不但使得本产品与 M-MLV 野生型相比具有更高的热稳定性, 而且还提高了本产品的反转录效率和对长片段 cDNA 的反转录能力。

产品特点

- 酶效率高: 高效的逆转录酶活性, 后续实验兼容性好。
- 底物范围广: 适用于所有 RNA, 尤其是具有复杂二级结构的 RNA 模板。
- 反转片段长: cDNA 第一链合成可以达 12.3 kb。

尿嘧啶 DNA 糖基化酶 (UDG)

TIANSeq Uracil DNA Glycosylase

——特异水解含 duTP 的长链 DNA 分子

目录号	包装	价格
NG213-01	1000 U	508 元
NG213-02	10000 U	4080 元

产品包装

试剂盒组成	NG213-01	NG213-02
Uracil DNA Glycosylase	1,000 U	10,000 U
10×UDG Reaction Buffer	450 μl	3×1.5 ml

保存条件

试剂盒于 -15~-25°C 保存

适用范围

1. 在二代测序 (NGS) 应用中, 主要用于 RNA 定向测序文库的构建。
2. PCR 反应中, PCR 产物污染物的去除。

产品简介

尿嘧啶 DNA 糖基化酶可催化水解含有尿嘧啶的 DNA 链的尿嘧啶碱基和糖磷酸骨架的 N-糖苷键, 释放游离尿嘧啶。本酶可作用于含有 dU 的单链或双链 DNA, 但对寡聚核苷酸 (<6 个碱基) 和 RNA 无活性。本产品来源于大肠杆菌重组克隆表达。该酶分子量约为 25.7 kDa。

产品特点

- 特异性水解含尿嘧啶的长链 DNA 分子。
- 蛋白比活性高, 稳定性好。

Klenow 片段 (无 3'-5' 外切活性) (低浓度)

TIANSeq Klenow (3' -5' exo-) (Low Conc.)

——聚合活性更强, 高效添加 dA

目录号	包装	价格
NG215-01	2500 U	1180 元
NG215-02	10000 U	3150 元

产品包装

试剂盒组成	NG215-01	NG215-02
Klenow (3'-5' exo-) (Low)	2500 U	2×5000 U
10×Blue Buffer	1.5 ml	2×1.5 ml

保存条件

-15~-25°C 保存

适用范围

1. 在二代测序 (NGS) 应用中, 主要用于文库构建过程中平端双链 DNA 片段的加 "A" 反应。
2. 双脱氧法 DNA 序列测定 (Sanger 法)。

产品简介

Klenow (3'-5' exo-) (低浓度) 是 DNA Klenow Fragment 的突变酶。该酶在模板和引物存在的条件下, 以 dNTP 作底物, 沿 5'-3' 方向催化与模板互补 DNA 的合成。通过点突变改造, 使本酶同时失去了 3'-5' 外切核酸酶的活性和切割平移活性。本产品是通过大肠杆菌表达的重组酶。分子量大小约为 68.1 kDa。

产品特点

- 通过点突变改造使得本酶的 5'-3' 聚合酶活性更强。
- 酶比活性高, 稳定性好, 与其他酶兼容能力强。

25 mM dNTPs 预混液

25 mM dNTPs Mixture

—高纯度 dNTP 预混液

目录号	包装	价格
NG217-01	1 ml	780 元
NG217-02	5 × 1 ml	3780 元

产品包装

试剂盒组成	NG217-01	NG217-02
dNTPs Mixture (25 mM each)	1 ml	5 × 1 ml

保存条件

-15~-25℃保存

产品简介

本产品分为 25 mM each 浓度。为 dATP、dGTP、dCTP、dTTP 的等摩尔混合物。

性质	产品描述
产品纯度	>99%
碱基纯度	>99.5%
焦磷酸残留	≤ 0.003 pmol/pmol of nucleotide
Nick Activity	未检测到
Nuclease Activity	未检测到

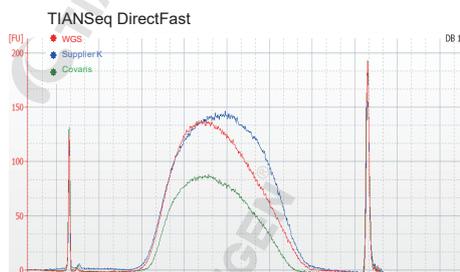
更多 NGS 建库定制化方案 请见下表 如有需要请联系 TIANGEN 销售人员

NGS 建库定制化方案名称	目录号	产品规格	产品价格
TIANSeq 直接快速 DNA 文库构建试剂盒 (Illumina 平台) TIANSeq DirectFast Library Kit (Illumina)	NG101-T1	96 rxn	询价
TIANSeq 快速 DNA 文库构建试剂盒 (Illumina 平台) TIANSeq Fast DNA Library Kit (Illumina)	NG107-T2	48 rxn	询价
TIANSeq 文库定量试剂盒 (Illumina, 探针法) TIANSeq DNA Quanti Kit (Illumina, Probe)	NG106-T1	10 μl × 500 rxn	询价
TIANSeq 双索引接头 A 组 (Illumina) TIANSeq Dual-Index Adapter-A (Illumina)	NG216-T1	20 μl × 96 Well	询价
TIANSeq 双索引接头 B 组 (Illumina) TIANSeq Dual-Index Adapter-B (Illumina)	NG216-T2	20 μl × 96 Well	询价
TIANSeq 双索引接头 C 组 (Illumina) TIANSeq Dual-Index Adapter-C (Illumina)	NG216-T3	20 μl × 96 Well	询价
TIANSeq 双索引接头 D 组 (Illumina) TIANSeq Dual-Index Adapter-D (Illumina)	NG216-T4	20 μl × 96 Well	询价
TIANSeq 双索引接头 E 组 (Illumina) TIANSeq Dual-Index Adapter-E (Illumina)	NG216-T5	20 μl × 96 Well	询价
TIANSeq 双索引接头 F 组 (Illumina) TIANSeq Dual-Index Adapter-F (Illumina)	NG216-T6	20 μl × 96 Well	询价
TIANSeq 核糖体 RNA 去除试剂盒 (G+ 细菌) TIANSeq rRNA Depletion Kit (G+ Bacteria)	NR101-T6	24 rxn	询价
TIANSeq 核糖体 RNA 去除试剂盒 (G- 细菌) TIANSeq rRNA Depletion Kit (G-Bacteria)	NR101-T5A	24 rxn	询价
TIANSeq 核糖体 RNA 去除试剂盒 (G- 细菌) TIANSeq rRNA Depletion Kit (G-Bacteria)	NR101-T5	96 rxn	询价
TIANSeq 核糖体 RNA 去除试剂盒 (H/R/M) TIANSeq rRNA Depletion Kit (H/R/M)	NR101-TA	50 rxn	询价

常见问题解决

Q NGS文库的片段大小分布一般是怎样的？

A 高通量测序技术目前主要以二代测序技术为主，因为二代测序技术的读长有限，为此我们必须将全长的序列打断成小片段的文库才能进行测序。根据不同测序实验的需求，我们通常会选择单端测序或双端测序，因此目前二代测序文库 DNA 片段一般在 200-800 bp 范围内分布。



不同方法构建得到的NGS文库片段大小分布相似效果

Q 构建得到的文库DNA浓度低？

A a) DNA 质量差，含抑制物

使用高质量的 DNA 样本，以免抑制酶活性。

b) 采用 PCR-free 方式构建 DNA 文库时，DNA 上样量不足

当片段化 DNA 的上样量超过 50 ng 时，可在文库构建过程中选择性的进行 PCR-free。如果文库拷贝数过低不能进行直接测序，可在接头连接完成后对 DNA 文库进行 PCR 扩增。

c) RNA 污染造成起始 DNA 定量不准确

基因组 DNA 纯化过程中可能存在 RNA 污染，进而导致 DNA 定量不准确，使文库构建时 DNA 上样量不足。可用 RNase 对 DNA 样本进行处理，以除去 RNA。

Q DNA文库在电泳分析中出现异常条带

A-1 a) 出现小片段 (60 bp-120 bp)

小片段一般为接头片段或接头所形成的二聚体，使用 Agencourt AMPure XP 磁珠进行纯化可以有效去除这些接头片段，保证测序质量。除此之外，我们还可以减少接头用量以减少文库中接头二聚体的形成。

b) 文库经 PCR 富集后出现大片段

接头连接后文库 DNA 片段的大小会增加 120 bp，若添加接头后 DNA 片段增大幅度超过 120 bp，则可能为 PCR 扩增过度，导致产生了片段扩增异常。减少 PCR 循环数可以避免这种情况的发生。

c) 接头连接后文库 DNA 片段大小异常

本试剂盒接头长度为 60 bp，则当片段两端被连接接头后，其长度只会增加 120 bp。如果使用非本试剂盒提供的接头，请联系供应商提供接头长度等相关信息。请确保试验流程及操作遵守操作手册所描述的步骤进行。

d) 接头连接前 DNA 片段大小异常

此问题产生的原因可能是在 DNA 片段化过程中使用了错误的反应条件。不同的 DNA 上样量应使用不同的反应时间。若 DNA 上样量大于 10 ng，我们使用 NG101 产品建库时，建议以 12 min 反应时间作为起始时间进行优化，此时产生的片段大小主要为 300-500 bp 范围。用户可根据自己的需求在此时长基础上增加或减少 2-4 min 优化得到所需大小的 DNA 片段。

A-2 a) 片段化时间未优化

如果片段化的 DNA 过小或过大，请参考说明书中提供的 DNA 片段大小随片段化反应时间变化图进行反应时长的初步确定，并以此时长为对照，额外设置延长或缩短 3 min 的反应体系对片段化时间进行较为准确的判断。

A-3 片段化处理后 DNA 的大小分布出现异常**a) 片段化试剂融化方式不正确，或融化后未完全混匀**

将 5×Fragmentation Enzyme Mix 试剂置于冰上融化。一旦融化，轻弹管底将试剂混匀，注意不要涡旋混匀！

b) 用于上样的 DNA 溶液中含有 EDTA 或其他污染物

在 DNA 纯化步骤中除去盐离子和螯合剂对于试验的成功尤为重要。如果 DNA 溶解于 1×TE，可采用说明书中提供的方法进行片段化。如果不确定溶液中的 EDTA 浓度，则建议对 DNA 进行纯化，然后将其溶解于去离子水中进行后续反应。

c) 起始 DNA 定量不准确

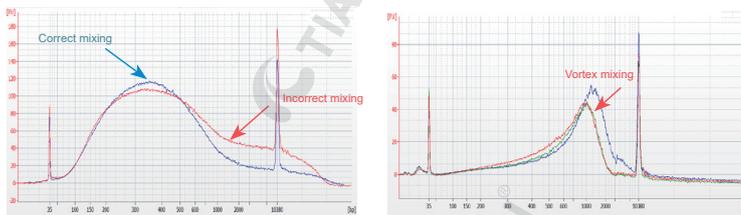
片段化处理后 DNA 的大小与 DNA 上样量密切相关。在片段化处理前，使用 Qubit、Picogreen 等方法对 DNA 进行精确定量有助于确定反应体系中 DNA 的准确用量。

d) 配制反应体系时未遵循说明书进行

片段化反应体系的配制必须严格按说明书所述在冰上进行，为了保证最好的效果，所有反应组份也均应置于冰上，并在完全冷却后再进行反应体系的配制。配制完成后请轻弹或吸打混匀，切不可涡旋！

使用TIANSeq DirectFast DNA Library Prep Kit (NG101) 需要注意的问题

1. 不恰当的混匀方式（涡旋、剧烈振荡等）会造成文库片段分布出现异常（如右图），从而影响文库质量。故而当配制5×FEA Enzyme Mix的片段化反应液时，请使用移液器轻柔吸打混匀，或用指尖轻弹混匀。注意不要使用涡旋混匀。



混匀方式错误对结果造成的影响

2. 必须使用高纯度DNA进行文库构建

■ DNA完整度较好：电泳条带30 kb以上，无拖尾现象

■ OD_{260/230}: >1.5

■ OD_{260/280}: 1.7-1.9

3. DNA上样量必须准确

建议采用Qubit、Picogreen方法对DNA进行定量，而不宜使用Nanodrop进行定量

4. 必须明确DNA溶液中EDTA的含量

EDTA对片段化反应影响较大，若EDTA含量高，则需要对DNA进行纯化才能够进行后续试验

5. 片段化反应液必须在冰上配制

片段化反应过程对反应温度和时间敏感（尤其是添加Enhancer后），为了保证反应时间的准确性请于冰上配制反应体系。

6. 片段化反应时间必须准确

片段化步骤的反应时间将直接影响片段化产物的大小，从而对文库中DNA片段的大小分布造成影响。

使用TIANGEN Fast RNA Library Kit (Illumina) (NR102)常见问题

1. 本试剂盒适用的样本类型？

本试剂盒适用的样本类型可以是总RNA，也可以是分离获得的mRNA，要求样本RNA完整性良好。如果采用总RNA进行文库构建，推荐配合使用本公司的rRNA去除试剂盒NR101（rRNA去除试剂盒（H/R/M））或者其他公司的rRNA去除产品。

2. FFPE样本是否可以用该试剂盒建库？

FFPE样本中的mRNA会有一定程度的降解，完整性相对较差，如果使用该试剂盒建库，建议自行对样品的片段化时间进行调整（相应缩短片段化时间或者不进行片段化处理）。

3. 使用该产品说明书中提供的片段分选方案，插入片段出现略微的偏离，可能的原因？

应严格按照本产品说明书中的片段分选方案进行片段分选，如果出现偏离，原因是磁珠未平衡至室温，未充分混匀，移液器不准确或者枪头挂壁，建议使用低吸附的枪头进行实验。

4. 文库构建中接头的选择

该文库构建试剂盒不包含接头试剂，推荐配合使用本公司产品TIANSeq Single-Indexed Adapter (Illumina® Platforms) (NG214-01/02/03)。

5. 文库质检

文库定量检测：采用Qubit和qPCR分别测定文库的质量浓度和摩尔浓度，严格按照本产品说明书操作，文库的浓度一般都会满足上机测序的要求。

文库分布范围检测：采用Agilent 2100 Bioanalyzer 进行文库分布范围的检测。

6. 文库扩增循环数的选择

按照说明书建议，PCR扩增的循环数为6~12个，按照样本起始量的多少，酌情选择所需要的PCR循环数。高产量的文库通常会出现不同程度的过度扩增现象，表现为在进行Agilent 2100 Bioanalyzer 检测时，在目标范围的峰之后略微出现更大片段的峰。或者采用Qubit和qPCR检测时，Qubit 测定的浓度低于qPCR定量的浓度。轻度的过度扩增属于正常现象，不影响文库的测序及后续的数据分析。

7. 文库Agilent 2100 Bioanalyzer检测时出现刺峰

某些样品建库后Agilent 2100 Bioanalyzer检测时出现刺峰，原因是样品打断不均一，使得某些大小的片段较多，经过PCR富集后更加明显，此种情况下建议做不分选方案，即94°C-15 min打断条件，此时片段分布小且集中，均一性提高。