

版本号: NG230911

TIANseq Fast Ligation Module

TIANSeq快速连接模块

目录号: NG303

产品内容

产品组成	NG303-01 (24 rxn)	NG303-02 (96 rxn)
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

储存条件

请将试剂盒置于-30~-15℃保存，避免反复冻融。保质期为一年。

产品简介

TIANSeq Fast Ligation module是专门针对于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 Fragment/Repair/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。

适用范围：将DNA adapter与3'端添加dA的DNA文库片段的快速连接（如TIANSeq Fragment/Repair/Tailing Module或TIANSeq End Repair/dA-Tailing Module处理后的产物）

适用样本量：0.25 ng ~1 µg DNA

推荐使用的其他试剂

1. TIANSeq Fragment/Repair/Tailing Module (NG301-01/02)
2. TIANSeq End Repair/dA-Tailing Module (NG302-01/02)
3. TIANSeq Dual-Index Adapter (Illumina) (NG216)
4. TIANSeq Size Selection DNA Beads (NG316-01/02/03)

产品特点

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

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，并使用RNA酶及DNA清除试剂处理台面，确保没有RNA酶和DNA的污染。
4. 进行操作前，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

1. DNA片段经TIANSeq Fragment/Repair/Tailing Module 或TIANSeq End Repair/dA-Tailing Module处理，完成A尾添加反应后，向此50 μ l反应体系中加入Y μ l的adapter溶液，轻柔吸打混匀后置于冰上。

注意：本试剂盒中不含测序DNA adapter，推荐配合TIANSeq Dual-Index Adapter (Illumina) (NG216)使用，为了达到较高的连接效率，我们推荐反应体系中DNA片段与adapter的摩尔比在10:1至200:1之间，详见NG216产品说明书。

2. 按照下表所示各组分用量配制反应体系，并将配制完成的反应体系轻柔混匀后置于冰上。

组分名称	体积 (μ l)
5 $\times$ Ligation Buffer	20
TIANSeq DNA Ligase	10
Nuclease-Free ddH ₂ O	(20-Y)
总体积	(50-Y)

注：对于多个样品，请计算所需试剂的总体积并在此基础上额外添加10%的试剂，以避免分装过程中枪头挂壁损失而导致试剂体积不足。

3. 将此配制好的(50-Y) μ l连接反应液加入至第1步准备的反应液中，轻柔吸打混匀10次后置于预设温度为20 $^{\circ}$ C的金属浴或PCR仪中反应15 min。

注意：此步骤如果使用PCR仪进行反应，PCR仪热盖温度设定为 $\leq 40^{\circ}$ C。

4. 接头连接产物的纯化推荐使用TIANSeq Size Selection DNA Beads (NG316)，向反应产物中加入1 $\times$ 体积（100 μ l）磁珠进行纯化，具体步骤如下：

- 1) 将磁珠置于室温平衡20 min。
- 2) 涡旋使磁珠充分悬浮，加入100 μ l磁珠至步骤3连接产物中，充分吸打混匀10次。
- 3) 室温孵育5 min后，将反应管置于磁力架上5 min。待磁珠完全贴壁后，用移液器吸弃上清。
- 4) 将反应管置于磁力架上，用200~500 μ l(没过磁珠即可) 80%乙醇(现用现配)洗涤磁珠，用移液器轻轻吹打3~5次(不要吹散磁珠)。磁力架上静置30 sec后，用移液器小心吸弃上清。

5) 重复此洗涤步骤一次。

6) 将反应管置于磁力架上，打开离心管盖于室温条件下晾置5~10 min或至磁珠干燥为止。

注：不要过分干燥磁珠，否则会造成得率降低。

7) 将PCR管从磁力架中取出，加入22.5 μ l 10 mM Tris-HCl (pH8.0) 进行洗脱，使用移液器吹打充分混匀10次。室温静置5 min后，置于磁力架上5min，待磁珠完全贴壁后，转移约20 μ l上清至新的离心管中，用于后续的PCR富集实验。

8) 如进行DNA长度分选，加入102.5 μ l 无核酸酶去离子水进行洗脱。并转移约100 μ l上清至新的离心管中，用于后续的DNA片段长度分选。

注：如果需要对DNA片段大小进行选择，则请参照TIANSeq DirectFast DNA Library Kit (illumina) (NG101) 说明书中片段分选步骤进行操作。如果连接产物无需进行PCR富集，可在步骤7)中加入12.5 μ l的10 mM Tris-HCl (pH 8.0) 洗脱DNA，并转移10 μ l纯化后的DNA用于后续的试验反应。如不立即使用，请将样品冻存于-20℃保存。



TIANGEN 官方微信，专业服务助力科研：

- 可视化操作指南
- 技术公开课合辑
- 全线产品查询
- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动

坚持“CUSTOMER FIRST”理念 秉承“质量为天，服务为根”宗旨！

TIANGEN为您提供从样本处理，
核酸纯化到下游检测的整体解决方案

科研试剂

- 样本保护与处理
- 磁珠法外泌体系列
- 基因组 DNA 提取
- 质粒提取
- 总 RNA 提取
- DNA 产物纯化 / 胶回收
- PCR 系列
- NGS 文库制备
- 表观遗传学
- RT-PCR 系列
- 荧光定量 PCR 系列
- 克隆和点突变
- DNA 分子量标准
- 蛋白表达和检测

科研解决方案

- 快速分子克隆整体解决方案
- 基因表达分析快速解决方案
- 环境微生物解决方案
- 复杂样本 RNA 解决方案