

GDS Fragmentation & End Prep Module

使用说明书

货号/规格: K023-A/24 rxns; K023-B/96 rxns

产品简介

GDS Fragmentation & End Prep Module 是针对高通量测序平台文库构建而设计的模块, 该模块将完整 DNA 的片段化、末端修复和加 dA 尾合并, 不仅缩短了操作及反应时间, 而且降低了对模板的需求量, 可对 100 pg ~ 500 ng 的 DNA 模板进行高效的片段化、5'末端磷酸化及 3'末端加 dA 尾。本品包含反应所需的酶和缓冲液, 使用方便, 兼容自动化建库设备。

产品组成

组分	K023-A (24 rxns)	K023-B (96 rxns)
<i>GDS FEP Enzyme Mix</i>	240 μ L	2 \times 480 μ L
<i>GDS FEP Buffer</i>	120 μ L	480 μ L
<i>Neutralization Buffer</i>	120 μ L	480 μ L

储存条件

所有试剂均应保存于 -20°C。

适用范围

dsDNA 文库构建中的片段化、末端修复和加 A。

应用举例

1. 确定模板 DNA 的溶剂成分, 如不含有 EDTA, 则直接进行步骤 2; 如含有 EDTA, 则用 2.2X 的磁珠进行纯化, 或按下表 EDTA 的含量加入对应体积的 *Neutralization Buffer* 进行中和:

EDTA 浓度	<i>Neutralization Buffer</i> 加入体积
1 mM	5 μ L
0.8 mM	4 μ L
0.6 mM	3 μ L
0.5 mM	2.5 μ L
0.4 mM	2 μ L
0.2 mM	1 μ L
0.1 mM	0.5 μ L
<0.1 mM	0 μ L

2. 确保试剂完全解冻并混匀, 置于冰上备用, 在 0.2 mL PCR 管中准备如下体系:

组分	用量
DNA	X μ L
<i>GDS FEP Buffer</i>	5 μ L
<i>GDS FEP Enzyme Mix</i>	10 μ L
dd H ₂ O	To 50 μ L

3. 轻轻混匀上述反应物, 并瞬时离心收集。

4. 在 PCR 仪中设置热盖 105°C, 进行如下反应:

温度	时间
37°C	5~30 min *
65°C	30 min
4°C	hold

* 片段化的时间应根据目标片段大小进行设置, 可参考下表:

片段长度	优化时间范围
150 bp	20-30 min
250 bp	15-20 min
350 bp	10-15 min
550 bp	6-10 min

5. 尽快直接进行接头连接, 避免 DNA 过度片段化。

本品仅供科学研究使用。