

GDS Ligation Module

使用说明书

货号/规格: K026-A/24 rxns; K026-B/96 rxns

产品简介

GDS Ligation Module 连接模块经过优化,可以有效地将与 Illumina 测序兼容的 DNA 适配器连接到末端修复的 dA 尾 DNA 片段。该模块可以从 500 pg 到 1 μg 输入 DNA 制备高质量,且高质量的文库。

产品组成

组分	K026-A (24 rxns)	K026-B (96 rxns)
GDS DNA Ligase	120 μL	480 μL
GDS Ligation Buffer	600 μL	4×600 μL

储存条件及有效期

所有试剂均应保存于-20℃, Ligation Buffer 在低温下会有晶体析出,属正常现象,应平衡至室温后使用,产品有效期为 12 个月。

适用范围

NGS 建库中末端修复后的 DNA 片段进行接头连接。

应用举例

使用 GDS End Preparation Module (#K025) 与 GDS Ligation Module 的操作流程

起始材料:500 pg-1 μg 经 GDS End Preparation Module (#K025) 修复后的 DNA 片段,使用前先用 0.1X TE 对 adapter 进行稀释。

表 1 Adapter 稀释

DNA 投入量	Adapter 浓度	Adapter:Insert 摩尔比	GDS Adapter 稀释度
1 μg	10 μM	10:1	不稀释
500ng	10 μM	20:1	不稀释

250ng	10 μM	40:1	不稀释
100ng	7.5 μM	100:1	3:4
50ng	5 μM	200:1	1:2
25ng	2.5 μM	200:1	1:4
1ng	1 μM	200:1	1:10

* Adapter:Insert 摩尔比指的是其他来源的 Adapter 摩尔数和 Input DNA 摩尔数的比值,可参照以下公式粗略计算 Input DNA 摩尔数:

$$\text{Input DNA 摩尔数 (pmol)} \approx \text{Input DNA 质量 (ng)} / [0.66 \times \text{Input DNA 平均长度 (bp)}]$$

* Adapter 的质量和浓度很大程度上影响了文库的产出,尤其是低投入量的建库。应选用优质来源的 Adapter,连接前用 0.1×TE 提前稀释成合适浓度,现配现用,保证每次加样量为固定的 5 μl,避免加样错误,并尽量避免反复冻融。

1. 将以下组分加入到末端修复反应体系中:

末端修复反应混合液	65 μL
GDS DNA Ligase	5 μL
GDS Ligation Buffer ^a	25 μL
Adaptor ^b	5 μL
总体积	100 μL

a 在加入反应之前,通过上下移液多次混合 GDS Ligation Buffer,让低温下凝固的白色晶体完全溶解,恢复至常温使用。

b 东盛生物 Adaptor 货号 #K002, #K003。

注意:所有组分均现配现用,避免提前混合。

2. 用移液器轻轻上下移液至少 10 次,使整个体积混合均匀。快速短暂离心以收集管子两侧的所有液体。

注意:混合均匀很重要。少量气泡的存在不会影响性能。

3. 在 PCR 仪中进行如下反应:

温度	时间
20℃	15 min
4℃	∞

4. DNA 现在已经准备好进行纯化。

本品仅供科学研究使用。