

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 制备高产量的,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:

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

* 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。

建库模块

东盛生物提供以下 DNA 及 RNA 建库模块，可结合使用，完成高质量建库：

模块类型	产品名称	货号/规格
cDNA 第一链合成	GDS RNA First Strand Synthesis Module	K020-A/24 rxns K020-B/96 rxns
cDNA 特异性第二链合成	GDS Directional RNA Second Strand Synthesis Module	K021-A/24 rxns K021-B/96 rxns
cDNA 非特异性第二链合成	GDS Non-Directional RNA Second Strand Synthesis Module	K022-A/20 rxns K022-B/100 rxns
片段化+末端修复模块	GDS Fragmentation & End Prep Module	K023-A/24 rxns K023-B/96 rxns
片段化模块	GDS dsDNA Fragmentase	K024-A/50 rxns K024-B/250 rxns
末端修复模块	GDS End Preparation Module	K025-A/24 rxns K025-B/96 rxns
接头连接模块	GDS Ligation Module	K026-A/24 rxns K026-B/96 rxns
扩增模块	HIFI Library PCR Master Mix	K007-A/40 rxns K007-B/400 rxns K007-C/2000 rxns
片段纯化模块	GDSPure DNA Selection Magbeads	NC1011/5 mL NC1012/60 mL NC1013/450 mL

本品仅供科学研究使用。