GNM Fragment Kit 试剂盒

使用说明书

货　号：

CX24004-S(24 rxns)

CX24004-L(96 rxns)

一、试剂盒简介

GNM Fragment Kit 试剂盒是一款酶法片段化双链 DNA 试剂盒，试剂盒中的片段化酶可以将不同投入量的双链 DNA 根据不同时间随机打断成不同大小的 DNA 片段，且偏好性小，片段化后的双链 DNA 可以进行 DNA 文库构建。与超声法片段化 DNA 相比，酶法效率更高，操作简便。搭配 NGS illumina 平台通用型 DNA 文库构建试剂盒、NGS MGI 平台通用型 DNA 文库构建试剂盒，可以兼容 1-500 ng 不同来源的 DNA 进行文库构建，同时兼容 FFPE DNA。试剂盒提供的所有试剂都经过了严格的质量控制和功能验证，最大程度上保证了文库构建的稳定性和重复性。

二、试剂盒规格及组分

组分名称	CX24004-S (24 rxns)	CX24004-L (96 rxns)	保存温度
片段化酶	48 μL	192 μL	-25~-15 °C
5×片段化缓冲液	192 μL	768 μL	-25~-15 °C

三、保存与运输条件

-25～-15℃保存，干冰运输。

四、注意事项

4.1 实验开始前，建议使用 Qubit 试剂或者其他基于荧光法的方法对 DNA 样本进行定量。

4.2 使用本试剂盒进行 DNA 片段化，建议将 DNA 溶解于 ddH_2O 中。

4.3 样本中的杂质会对建库过程产生影响，如果样本中杂质过多，建议使用 2×磁珠进行纯化，并使用 ddH_2O 进行样本洗脱。

4.4 片段化酶可以兼容不同来源样本，对于 FFPE 样本，建议根据降解程度选择不同片段化时间。

4.5 片段化对时间敏感，建议加入片段化酶后，立即放入 PCR 仪反应。

4.6 多样本同时进行片段化，建议在冰上将片段化酶加入 200 μL PCR 单管管盖或者置于冰上的八联排管盖中，再统一离心、混匀体系，防止因片段化时间差异导致的片段化产物差异过大。

4.7 片段化反应前，请 4℃预冷 PCR 仪。

五、操作步骤

5.1 将 5×片段化缓冲液室温解冻，震荡混匀，短暂离心后置于冰上备用。

5.2 将片段化酶置于冰上解冻，轻弹混匀，短暂离心后置于冰上备用。

5.3 将 PCR 仪预冷至 4℃。

5.4 在置于冰上的 PCR 管中配置表 1 中的体系：

表 1　DNA 片段化体系

试剂	体积
DNA*	X μL
5×片段化缓冲液	8 μL
片段化酶	2 μL
ddH_2O	UP to 40 μL
Total	40 μL

*注：DNA 应溶解于 ddH_2O 中，如果 DNA 不是溶解于 ddH_2O 中，建议使用 2×磁珠进行纯化后溶解于 ddH_2O 中再进行片段化。

5.5 使用移液器轻轻吹打或低速振荡混匀，并短暂离心将反应液离心至管底。

5.6 立即将 PCR 管放入预冷的 PCR 仪中，运行表 2 程序(**热盖温度 85℃**)：

表 2　DNA 片段化程序

温度	时间
4℃	1 min*
32℃	5-20 min**
75℃	15 min
4℃	∞

*注 1：DNA 片段化时，为有效控制片段化效果，避免过度酶切，反应程序可预先设置 4℃，待模块温度降至 4℃时，将 PCR 管放入 PCR 仪。

**注 2：使用 Human Blood gDNA 测试，片段化时间在 5-10 min，接头连接后 0.8×磁珠纯化，所得文库主峰在 250-650 bp，如果需要获得其它文库片段范围，可根据具体样本类型对片段化时间进行适当调整。

5.7 反应结束后，产物可根据需要进行磁珠回收或磁珠分选回收，也可搭配 NGS illumina 平台通用型 DNA 文库构建试剂盒、NGS MGI 平台通用型 DNA 文库构建试剂盒直接进行文库构建。

六、免责声明

试剂盒仅供研究使用，不得用于临床实验或人体实验，否则所产生的一切后果，由实验者承担，本公司概不负责。严格按照说明书操作，实验者违反说明书操作，后果由实验者承担。