

版本号: NG170217

## 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 $\mu$ l	960 $\mu$ l
5 $\times$ Ligation Buffer	500 $\mu$ l	2 $\times$ 1 ml
Nuclease-Free ddH <sub>2</sub> O	1 ml	2 $\times$ 1 ml

#### 储存条件

请将试剂盒置于-25~-15 $^{\circ}$ C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 Fragmentation/End Repair/dA-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 Fragmentation/End Repair/dA-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 Fragmentation/End Repair/dA-Tailing Module (NG301-01/02)
2. TIANSeq End Repair/A-Tailing Module (NG302-01/02)
3. TIANSeq Single-Indexed Adapter (Illumina® Platforms) (NG214-01/02/03)
4. BECKMAN Agencourt AMPure XP磁珠

## 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. 进行文库扩增前，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 Fragmentation/End Repair/dA-Tailing Module或TIANSeq End repair/dA-Tailing Module处理，完成A尾添加反应后，向此50  $\mu$ l反应体系中加入Y  $\mu$ l的adapter溶液，轻柔吸打混匀后置冰上。

**注意：**本试剂盒中不含测序DNA adapter，推荐配合TIANSeq Single-Indexed Adapter (Illumina® Platforms) (NG214)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NG214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 ( $\mu$ l)
5 $\times$ Ligase Buffer	20
TIANSeq DNA Ligase	10
Nuclease-Free ddH <sub>2</sub> 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)  $\mu$ 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，置于20 $^{\circ}$ C中反应15 min。

**注意：**此步骤如果使用PCR仪进行反应，请不要启动热盖。

4. 向反应产物中加入0.8 $\times$ 体积(80  $\mu$ l) Agencourt AMPure XP磁珠进行纯化，具体步骤如下：

- a) 将AMPure<sup>®</sup>XP磁珠置于室温平衡20 min。
- b) 涡旋使磁珠充分悬浮，加入80  $\mu$ l Agencourt AMPure XP磁珠至步骤3溶液中，充分吸打混匀。
- c) 室温孵育5 min，将反应管置于磁力架上1~2 min。待磁珠完全贴壁后，用移液器吸弃上清。
- d) 向反应管内加入200  $\mu$ l 80%乙醇，轻轻震荡混匀，洗涤磁珠，并用磁力架回收磁珠，弃上清。

---

e) 将含有磁珠的反应管置磁力架上，开盖室温放置5~10 min，至晾干。

**注：不要过分干燥磁珠，否则会造成得率降低。**

f) 加入25  $\mu$ l 10mM Tris-HCl (pH 8.0)至离心管内并使用移液器轻轻吸打磁珠至充分悬浮。将反应管放置于磁力架上1~2 min，只使磁珠完全贴壁后，转移约20  $\mu$ l上清至新的离心管中，用于后续的PCR富集实验。

**注：如果需要对DNA片段大小进行选择，则请参照TIANSeq DirectFast DNA Library Prep 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g)中加入12.5  $\mu$ l的10 mM Tris-HCl (pH 8.0) 洗脱DNA，并转移10  $\mu$ 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 $^{\circ}$ C保存。**

---