

xLiBPreP™快速连接模块

操作说明书

(Cat#NC007, Version1.5)

欣基（杭州）生物科技有限公司
WisGen BioSciences Co., Ltd

For Research Use Only.

Not For Use in Diagnostic Procedures.

仅供科研使用

产品组成

主货号：NC007 规格：24 rxns / 96 rxns

组分	24 rxns (NC007-024)	96 rxns (NC007-096)
● Ligase Enzyme	240 μ L	960 μ L
● Ligation Buffer	720 μ L	2880 μ L
○ 1× TE Buffer	3 mL	6 mL

 **注意：**请严格按照推荐的储存条件，避免反复冻融。

保存与运输条件

-30 ~ -15 °C保存， \leq 0 °C运输。

产品概述

xLiBPreP™快速连接模块是一款针对 illumina 和 MGI 高通量测序平台设计的建库接头连接模块。本产品是通过 T4 DNA 连接酶，促进 DNA 链的 5' - 磷酸与 3' - 羟基之间形成磷酸二酯键，从而使接头与 DNA 进行连接反应。经片段化及末端修复加 A 尾处理后的 DNA，使用本产品，无需纯化，即可进行连接反应，短时间内达到最优连接效果，优化了实验操作流程。

适用范围

本产品可将经末端修复加 A 尾处理后的 DNA 与接头进行高效连接。

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本和产物之间的交叉污染。
2. 请使用不含核酸酶的吸头、离心管进行实验。
3. 实验开始前，请清洁操作台，确保没有核酸酶和 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. 不同平台对应的接头模块不同，需根据平台选择合适的接头模块，并根据对应说明书进行接头模块的使用。
6. 配制连接预混液时，请不要将 Adapter 提前配制于 Ligase Enzyme 和 Ligation Buffer 的混合液中，以免 Adapter 发生自连。
7. 试剂盒中所有酶制剂在使用完毕后，应立即置于 -20 °C 进行保存，以免降低酶的活性影响建库结果。
8. 实验前请仔细阅读说明书，如果需要暂停实验，或者无需立即进行下游实验，可根据说明书的推荐步骤，将实验产物保存于 -20 °C 并安排后续实验。

实验前准备

1. 自备试剂

生产商#货号	产品/试剂名称	备注
WisGen#NC008	xLiBPreP™末端修复/加 A 尾模块	推荐与本产品配套使用，如使用其它产品需联系技术支持
WisGen#NC004	xLiBPreP™通用高保真文库扩增试剂盒（适配 illumina）	推荐与本产品配套使用，如使用其它产品需联系技术支持
WisGen#MB002	xPure™分选磁珠	也可使用 Agencourt®AMPure XP Beads 进行代替
WisGen#YG00*	YWG™Adapter & Index Primer Set	不同测序平台请选择对应货号的接头及引物系列
WisGen#QC001	xQuant™DNA 高灵敏定量试剂盒（适配 Qubit® 平台）	用于投入 DNA 浓度及文库浓度测定
/	Nuclease-Free Water	/

 * YWG™ 接头及引物模块系列产品，提供了多种模块以满足实验需求，请根据不同测序平台对应的模块进行选择。

2. 仪器设备及耗材

实验仪器及耗材

生产商#货号	仪器/耗材名称	描述
*	PCR 基因扩增仪	/
*	微型离心机	/
*	涡旋振荡混匀仪	/
*	移液器	单通道或多通道

生产商#货号	仪器/耗材名称	描述
Thermo Fisher# Q33216	Qubit® 3.0 Fluorometer	可选择基于荧光染料法的 DNA 定量系统的其它同类 产品
Agilent#G2939AA	Agilent 2100 Electrophoresis Bioanalyzer® system	或其它同类产品
WisGen#MR-C-16	xMag™磁力架 (0.2 mL*16 孔)	或其它同类产品
WisGen#QC001-R	xQuant™管 (适配 Qubit 平台)	可选择适配 Qubit® 荧光计 的其它同类产品
WisGen#QC002-R	xQuant™检测联管 (适配 Qubit 平台)	可选择适配 Qubit® Flex 荧光计的其它同类产品
Axygen#PCR-02-C	0.2 mL 透明平盖 PCR 薄壁管	可选择无核酸酶的其它 同类产品
Axygen# PCR-0208-C	0.2 mL 八连排透明 PCR 薄壁管	可选择无核酸酶的其它 同类产品
*	1.5 mL 无色灭菌离心管	建议选择无核酸酶的产品
*	1000 µL 吸头	建议选择无核酸酶 带滤芯的产品
*	200 µL 吸头	建议选择无核酸酶 带滤芯的产品
*	0.5 - 10 µL 吸头	建议选择无核酸酶 带滤芯的产品

⬆ * 常规实验室供应商品牌即可

实验流程

1. 接头连接

1.1 试剂准备

1.1.1 在开始实验前，需要先将 1 ~ 500 ng 的 DNA 样本片段化，使用 xLiBPreP™ 末端修复/加 A 尾模块（WisGen#NC008）进行修复，并选择合适的接头模块。

1.1.2 将试剂盒中各组分置于冰上融化。Ligase Enzyme 用手指轻弹混匀，不要涡旋。其余试剂可短暂涡旋混匀。

1.2 实验步骤

1.2.1 本产品不含接头，用户可根据不同的测序平台，选择相应的接头套装试剂盒。

产品货号	产品名称	适用测序平台
YG001	YWG™ illumina 短接头套装	illumina
YG002	YWG™ illumina 分子标签接头套装	illumina
YG004	YWG™ MGI 短接头套装（双端 Barcode）	MGI
YG005	YWG™ MGI 分子标签接头套装（双端 Barcode）	MGI
YG006	YWG™ MGI 短接头套装（单端 Barcode）	MGI
YG009	YWG™ MGI 全长接头套装（单端 Barcode）	MGI

注意：以上列表中产品属于配套系列产品（欣基生物），如使用其他公司产品，请联系技术支持。

1.2.2 为了保证接头的连接效率和文库产量，对于低起始量样本，建议用 1× TE Buffer 稀释后进行使用，具体用量请参考下表：

Input DNA	接头稀释倍数	浓度 (μM)
1 μg ~ 50 ng	无需稀释	15
49 ng ~ 25 ng	2 倍稀释	7.5
24 ng ~ 10 ng	5 倍稀释	3
9 ng ~ 5 ng	10 倍稀释	1.5
< 5 ng	20 倍稀释	0.75

注意：配套 Adapter（WisGen）系列及产品原始浓度为 15 μmol/μL。

1.2.3 取出片段化修复产物，加入相应用量接头，如下表所示。

组分	体积 (μL)
片段化修复产物	60
Adapter*	3
Nuclease-Free Water	7
总体积	70

⬆ * 不同平台对应的接头模块不同，需根据平台选择合适的接头模块，按照说明书所示量添加。

⚠ **注意：避免 Adapter 发生自连，Adapter 需单独添加，不可以与 Ligation Buffer 和 Ligase Enzyme 预混。**

1.2.4 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涡旋混匀后置于冰上。

组分	体积 (μL)
步骤 1.2.3 混液	70
● Ligation Buffer	30
● Ligase Enzyme	10
总体积	110

⚠ **注意：对于多个反应，请计算所需试剂的总体积，并在此基础上增加 10%，涡旋混匀，再依次分装到 PCR 管中，避免因溶液转移过程中挂壁损失而造成分装反应数不足的问题。**

1.2.5 将 PCR 管放到 PCR 仪上，反应程序如下：

步骤	温度 (°C)	时间 (min)
1	22	15
2	4	∞

⚠ **注意：此步骤如果使用 PCR 仪进行反应，请不要启动热盖，否则热盖温度过高，将导致 PCR 管反应温度高于设置温度。**

1.2.6 反应结束后，在 4 °C Hold 建议不宜超过 1 h，尽快使用 xPure™ 分选磁珠

(WisGen#MB002) 进行后续纯化步骤，纯化后的连接产物可直接用于后续实验或 -20 °C 保存。

2. 文库 PCR 富集

2.1 可使用 xLiBPreP™ 通用高保真文库扩增试剂盒 (WisGen#NC004) 及 xPure™ 分选磁珠 (WisGen#MB002) 完成文库 PCR 富集及纯化实验。

2.2 纯化后的扩增产物可直接用于后续实验或 -20 °C 保存。

欣基（杭州）生物科技有限公司

WisGen BioSciences Co., Ltd

Add：浙江省杭州市钱塘区福城路 400 号 6 幢 8 层

Service：order@wisgen.cn Web：www.wisgen.cn

