

xLiBPreP™末端修复/加 A 尾模块

# 操作说明书

(Cat#NC006,Version1.4)

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：NC008 规格：24 rxns / 96 rxns

组分	24 rxns (NC008-024)	96 rxns (NC008-096)
● ERA Buffer	168 $\mu$ L	672 $\mu$ L
● ERA Enzyme Mix	72 $\mu$ L	288 $\mu$ L
○ 1× TE Buffer	3 mL	10 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™末端修复/加 A 尾模块是一款针对 illumina 和 MGI 高通量测序平台设计的末端修复建库模块。本产品是通过 DNA 聚合酶，修复 DNA 链碱基缺口，同时利用末端修复酶对 DNA 缺口及凸出的末端进行修复与 A 尾添加，快速地解决 DNA 修复问题，无需纯化，即可进行接头连接，极大地缩短了建库时间，简化了实验操作流程。

## 适用范围

本产品可对 1 ~ 500 ng 的 DNA 样本进行末端修复及加 A 尾添加，适用于 illumina / MGI 高通量测序平台的文库构建。

## 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. 为保证机械打断效果，DNA 推荐溶于 1× TE Buffer（10 mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0）。
6. 若样本类型为游离 DNA（Cell-Free DNA），提取纯化后无需进行打断操作，可进行末端修复及加 A 尾添加实验。
7. 如果提取纯化后的 DNA 样本中含有高浓度的金属离子螯合剂或其它盐离子成分，可能会影响酶反应效率。
8. 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。
9. 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. DNA 准备

本试剂盒不包含 DNA 片段化相关试剂。对于 DNA 的片段化处理过程，可在超声处理、化学处理和酶处理等常用方法中选择，具体操作请参考相关产品说明。游离 DNA 样本可提取后直接用于建库，无需片段化。片段化的 DNA 经磁珠纯化后，可用于后续末端修复/加 A 尾实验。

### 2. 自备试剂

生产商#货号	产品/试剂名称	备注
WisGen#NC007	xLiBPreP™快速连接模块	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。

### 3. 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
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

生产商#货号	仪器/耗材名称	描述
*	0.5 - 10 $\mu$ L 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. 末端修复/加 A 尾

#### 1.1 试剂准备

1.1.1 在开始实验前，确定 DNA 浓度和投入量。

 **注意：**确定投入的 DNA 浓度至关重要，尤其在投入量低于 100 ng 时，推荐使用染料法对 DNA 浓度进行准确定量。

常见应用场景中推荐的 DNA 投入量请参考下表：

应用场景	样本类型	DNA 投入量 (ng)
全基因组测序	复杂基因组	50 ~ 500
靶向捕获测序	复杂基因组	10 ~ 500
全基因组/靶向捕获测序	FFPE DNA	$\geq 10$
全基因组/靶向捕获测序	Cell-Free DNA	$\geq 1$
宏基因组测序	微生物基因组	1 ~ 500
免疫共沉淀测序	ChIP DNA	$\geq 1$

 **注意：**以上为高质量 DNA 推荐的投入量，当 DNA 质量较差时，应适当上调 DNA 的投入量。

1.1.2 将试剂盒中各组份置于冰上融化后颠倒混匀，瞬时离心后备用。

## 1.2 实验步骤

1.2.1 取 0.2 mL PCR 管，按照下表配制反应体系，将各组分加入后，涡旋振荡混匀，请务必在冰上进行操作。

组分	体积 (μL)
● ERA Enzyme Mix	3
● ERA Buffer	7
DNA sample	X
Nuclease-Free Water	50 - X
<b>总体积</b>	<b>60</b>

**!** 注意：对于多个反应，请计算所需试剂的总体积，并在此基础上增加体系 10%，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。

1.2.2 按照下表设置 PCR 仪反应程序，热盖温度设置为 85 °C。

步骤	温度 (°C)	时间 (min)
1	20	30
2	72	30
3	4	∞

1.2.3 反应液完全涡旋混匀后，将 0.2 mL PCR 管瞬时离心 30 sec，立即置于 PCR 仪中，并启动反应程序。

**!** 注意：将装有反应液的 PCR 管离心后，请注意不要产生气泡，以免影响 PCR 反应。

1.2.4 反应结束后，尽快进行后续实验，在 4 °C Hold 建议不宜超过 1h。

**!** 注意：不可直接将产物置于 -20 °C 保存，需要尽快进行接头连接与纯化步骤。

## 2. 接头连接与纯化

2.1 可使用 xLiBPreP™快速连接模块 (WisGen#NC007) 与 xPure™分选磁珠 (WisGen#MB002) 直接进行后续接头连接与纯化实验。

2.2 纯化后的连接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

