

N201-01 Library Preparation

Turbo End Repair/dA-Tailing Module for Illumina®

產品簡介

Turbo End Repair/dA-Tailing Module for Illumina®是針對 Illumina 高通量定資料庫平台資料庫建構定向優化而成的試劑組。使用此試劑組可以高效修復 5 ng – 1 µg 片段化 DNA 的末端，修復產物 5'端包含磷酸基團且 3'帶有 dA 突出。與常規建構資料庫方法相比，Turbo End Repair/dA-Tailing Module for Illumina®採用一步法反應流程，省略了多個產物純化步驟。因此顯著降低了起始 DNA 模板的最少需求量，縮短了實驗耗時。試劑組中提供的所有試劑都經過嚴格的品質控制和功能驗證，確保了資料庫建構的穩定性和重複性。

產品組成

組成	N201-01 (24 rxn)	N201-02 (96 rxn)
Turbo End Prep Enzyme Mix	72 µl	288 µl
Turbo End Prep Reaction Buffer (10X)	156 µl	624 µl

儲存條件與有效日期

所有組成-20°C 保存，有效期一年。

其他必須組成

Singleplex or Multiplex Oligos for Illumina®, Vazyme #N301, #N302 或#N303

Turbo Ligation Module for Illumina®, Vazyme #N202

Super-Fidelity DNA Polymerase, Vazyme #N206

適用範圍

可高效率修復 5 ng – 1 µg 片段化 DNA 的末端，修復產物 5'端包含磷酸基團且 3'帶有 dA 突出，適用於 Illumina 高通量定序平台資料庫建構

使用方法

實驗材料：5 ng – 1 µg 片段化 DNA

1. 在無菌 PCR 管中配製如下反應：

Turbo End Prep Enzyme Mix	3.0 µl
Turbo End Prep Reaction Buffer (10X)	6.5 µl
片段化 DNA	x µl
ddH ₂ O	To 65.0 µl

2. 使用 pipetman 輕輕拍打充分混勻(請勿振盪混勻)，並短暫離心將反應液收集至管底。

3. 將反應管置於 PCR machine 中，進行下列反應：

上蓋加熱	On, 105°C
20 °C,	30 min
65 °C,	30 min
Hold	at 4 °C

4. 使用 Turbo Ligation Module (Vazyme #N202)直接進行後續與接合子的連接反應。

品質控制

Turbo End Prep Enzyme Mix

SDS-PAGE 純度: 所有酵素組成純度 > 95%。

核酸內切酶殘留: 50 µl 反應體積中加入 10 µl 酵素和 1 µg φX174 RF I DNA，37°C 下反應 4 小時。經凝膠電泳檢測，RF II 轉化率 < 10%。

磷酸酶活性檢測: 在磷酸酶活性檢測緩衝液中加入 10 µl 酵素和 2.5 mM 對硝基苯磷酸，37°C 下反應 4 小時。經光譜測定法檢測，於 405 nm 無對硝基苯陰離子吸收高峰。

功能性活性檢測: 在 1X End Prep Reaction Buffer 中加入 1 µl 酵素和 0.5 µg 包含 5' 和 3' 突出末端的片段化 DNA，25°C 下反應 20 分鐘。

經毛細管電泳檢測，末端修復、加 dA-tail 並磷酸化的 DNA 比率 > 95%。

Turbo End Prep Reaction Buffer (10 ×)

16 小時反應檢測: 50 µl 反應體積中包含 1X End Prep Reaction Buffer 和 1 µg HindIII-λDNA，37°C 下反應 16 小時。經凝膠電泳檢測，條帶無降解；50 µl 反應體積包含 1X End Prep Reaction Buffer 和 1 µg T3 DNA，37°C 下反應 16 小時。經凝膠電泳檢測，條帶無降解。

核酸內切酶殘留: 50 µl 反應體積中包含 1X End Prep Reaction Buffer 和 1 µg φX174 RF I DNA，37°C 下反應 4 小時。經凝膠電泳檢測，RF II 轉化比率 < 10%。

RNase 活性殘留: 在 1 × End Prep Reaction Buffer 中加入 40 ng FAM-RNA，37°C 下反應 16 小時。經聚丙烯醯胺凝膠電泳檢測，條帶無降解。

磷酸酶活性檢測: 在磷酸酶活性檢測緩衝液中加入 1X End Prep Reaction Buffer 和 2.5 mM 對硝基苯磷酸，37°C 下反應 4 小時。經光譜測定法檢測，於 405 nm 無對硝基苯陰離子吸收高峰。

Turbo End Repair/dA-Tailing Module for Illumina®

所有批次均進行 DNA 資料庫建構並在 Illumina 定序平台上進行定序驗證。

