

GNM Frag Kit试剂盒

使用说明书

货 号:

CX24005-S(24 rxns)

CX24005-L(96 rxns)

一、试剂盒简介

GNM Frag Kit试剂盒是一款酶法片段化 dsDNA 试剂盒，试剂盒中的片段化酶可以将不同投入量的 dsDNA 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 dsDNA 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 GNM Universal DNA Library Prep Kit for Illumina 试剂盒可以兼容 50-500 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	CX24005-S (24 rxns)	CX24005-L (96 rxns)	保存温度
FE Enzyme	312 μ L	1248 μ L	-25~-15 °C
10 \times FE Buffer	96 μ L	384 μ L	-25~-15 °C

三、保存与运输条件

-25 ~ -15°C 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 DNA 样本溶解于 ddH₂O，1 \times TE Buffer，Elution Buffer，Low-EDTATE 等常见溶剂，对于片段化的影响较小，均可正常进行实验。如果样本使用特殊溶剂进行溶解，可以尝试进行片段化，如无法片段化到预期的大小，建议进行一次 2 \times 磁珠纯化后，将样本溶于 1 \times TE Buffer 或 ddH₂O 中再进行片段化。

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 \times 磁珠进行纯化，并使用 1 \times TE Buffer 或 ddH₂O 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 μ L 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 32°C 预热 PCR 仪。

五、操作步骤

5.1 热失活步骤

- 5.1.1 将 10×FE Buffer 室温解冻，震荡混匀，短暂离心后置于冰上备用。
- 5.1.2 将 FE Enzyme 置于冰上解冻，轻弹混匀，短暂离心后置于冰上备用。
- 5.1.3 将 PCR 仪预热至 32°C。
- 5.1.4 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
Input DNA	X μ L
10×FE Buffer	4 μ L
FE Enzyme	13 μ L
ddH ₂ O	UP to 40 μ L
Total	40 μ L

- 5.1.5 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。
- 5.1.6 立即将 PCR 管放入预热的 PCR 仪中，运行表 2 程序(热盖温度 82°C)：

表 2 DNA 片段化程序

温度	时间
32°C	5-25 min*
72°C	15 min
4°C	∞

*注：使用 Human Blood gDNA 测试，片段化时间在 5-10 min，接头连接后 0.5×磁珠纯化，所得文库主峰在 250-650bp，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。

- 5.1.7 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 GNM Universal DNA Library Prep Kit for Illumina 试剂盒直接进行文库构建。

5.2 EDTA 失活步骤

- 5.2.1 将 10×FE Buffer 室温解冻，震荡混匀，短暂离心后置于冰上备用。
- 5.2.2 将 FE Enzyme 置于冰上解冻，轻弹混匀，短暂离心后置于冰上备用。
- 5.2.3 将 PCR 仪预热至 32°C。
- 5.2.4 在置于冰上的 PCR 管中配置表 3 中的体系：

表 3 DNA 片段化体系

试剂	体积
Input DNA	X μ L
10 \times FE Buffer	4 μ L
FE Enzyme	13 μ L
ddH ₂ O	UP to 40 μ L
Total	40 μ L

5.2.5 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。

5.2.6 立即将 PCR 管放入预热的 PCR 仪中，运行表 4 程序(热盖温度 82℃):

表 4 DNA 片段化程序

温度	时间
32℃	5-25 min*
4℃	立即取出

*注：使用 Human Blood gDNA 测试，片段化时间在 5-10 min，接头连接后 0.5 \times 磁珠纯化，所得文库主峰在 250-650bp，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。

5.2.7 取出片段化产物后，立即向每个体系中加入 5 μ L 0.5 M EDTA，快速涡旋混匀，瞬时离心。反应产物需先进行磁珠纯化，才可进行后续建库步骤。

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。