



CWseq Onestep DNA Frag And ER Reagent

一步法片段化/末修/加A

目录号: CW3046S (24 rxns)

CW3046M (96 rxns)

保存条件: -20°C保存, 干冰运输。

产品内容

| Component | CW3046S | CW3046M |
|----------------|-------------|-------------|
| FER Buffer | 240 μ L | 960 μ L |
| FER Enzyme Mix | 120 μ L | 480 μ L |

产品简介

CWseq Onestep DNA Frag And ER Reagent是针对Illumina与MGI高通量测序平台开发的新一代酶切修复试剂, 可完成一步法片段化/末修/加A, 本产品包含FER Enzyme Mix及FER Buffer, 可实现片段化、末端修复一管完成, 避免了繁琐的超声过程和对仪器的依赖, 操作方便。可实现对不同DNA样本进行高效快速的片段化、末端修复及dA尾添加, 应用于下游建库, 具有偏好性小、酶切修复效果稳定等优点, 文库转化效率更高。可应用于0.1 ng-1 μ g基因组DNA、PCR扩增产物、FFPE等不同来源的样本的片段化、末端修复和加A反应。

使用方法

1. 将FER Enzyme Mix、FER Buffer融化后用手指轻弹混匀，短暂离心收集置于冰上。
2. 向200 μ L PCR管中加入以下试剂（在冰上配置体系，配置完成后立即进行反应）：

| 组分 | 体积 |
|---------------------|------------------|
| Double-stranded DNA | 1 ng-500 ng |
| FER Buffer | 10 μ L |
| FER Enzyme Mix | 5 μ L |
| NF Water | Up to 50 μ L |
| Total | 50 μ L |

注：如果DNA溶解于含EDTA的溶液或反应体系EDTA终浓度 ≥ 0.2 mM建议使用磁珠进行纯化后使用。

3. 轻弹混匀，短暂离心收集置于冰上，立即进行PCR反应。
4. 打断修复程序参见下表（PCR仪热盖温度70 $^{\circ}$ C）

| 步骤 | 温度 | 时间 |
|----|-----------------|--------------|
| 1 | 4 $^{\circ}$ C | 1 min |
| 2 | 32 $^{\circ}$ C | 5-30min (可调) |
| 3 | 65 $^{\circ}$ C | 30 min |
| 4 | 4 $^{\circ}$ C | Hold |

片段化时间根据目标片段大小进行调节，具体参见下表。

片段化时间与预期插入片段大小之间的关系

| 插入片段大小 | 32 $^{\circ}$ C温育时间 (min) | | | |
|------------|---------------------------|------------|------------|------------|
| | 100-200 bp | 200-300 bp | 300-400 bp | 400-500 bp |
| 100 ng DNA | 20-30 min | 15-20 min | 10-15 min | 5-10 min |

注意：

- 1) 根据预期插入片段大小选择32 $^{\circ}$ C下温育时间，片段大小随反应时间的延长而变短。
- 2) 如结果和预期片段大小有少量偏差可酌情调整反应时间，可在推荐反应时间基础上加减3-5min。
- 3) FFPE及其他降解样本依据其质量适当减少片段化时间。
- 4) 片段化修复酶对时间反应灵敏，建议确定条件后精确控制反应时间。
- 5) 此步骤完成后搭配康为CW2701进行接头连接无需进行纯化，搭配其他品牌连接酶，需要测试体系Buffer是否兼容。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及及其他用途