

版本号: NG210831

## TIANseq Fast Ligation Module

### TIANSeq快速连接模块

目录号: NG303

#### 产品内容

产品组成	NG303-01 (24 rxn)	NG303-02 (96 rxn)
TIANSeq DNA Ligase	240 $\mu$ l	960 $\mu$ l
5 $\times$ Ligation Buffer	500 $\mu$ l	2 $\times$ 1 ml
Nuclease-Free ddH <sub>2</sub> O	1 ml	2 $\times$ 1 ml

#### 储存条件

请将试剂盒置于-30~-15 $^{\circ}$ C保存, 避免反复冻融。保质期为一年。

---

## 产品简介

TIANSeq Fast Ligation module是专门针对illumina高通量测序平台所优化的预混酶模块。使用本模块可以将3'端带有dA尾的DNA片段与adapter进行快速连接。与常规方法比较，本模块采用了一步法反应流程，TIANSeq Fragment/Repair/Tailing Module或TIANSeq End Repair/dA-Tailing Module反应后所获得的片段后DNA，无需磁珠纯化，可使用本模块直接与adapter进行连接，省去了多步磁珠纯化步骤，操作更加简便，文库转化效率更高。

适用范围：将DNA adapter与3'端添加dA的DNA文库片段的快速连接（如TIANSeq Fragment/Repair/Tailing Module或TIANSeq End Repair/dA-Tailing Module处理后的产物）

适用样本量：0.25 ng ~1 μg DNA

## 推荐使用的其他试剂

1. TIANSeq Fragment/Repair/Tailing Module (NG301-01/02)
2. TIANSeq End Repair/dA-Tailing Module (NG302-01/02)
3. TIANSeq Single-Indexed Adapter (illumina) (NG214-01/02/03)
4. TIANSeq Size Selection DNA Beads (NG306-01/02/03)

## 产品特点

1. 无需磁珠纯化，可直接将DNA adapter与带有dA-Tailing的DNA片段连接。
2. 连接高效，可进行微量样本的DNA adapter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品和产物之间的交叉污染。
  2. 请使用不含RNA酶或DNA酶的枪头、EP管进行试验。
  3. 试验开始前，请清洁操作台，并使用RNA酶及DNA清除试剂处理台面，确保没有RNA酶和DNA的污染。
  4. 进行操作前，请确保PCR仪已经调试好并处于稳定的状态。
  5. 试验前请仔细阅读说明书，如果需要暂停试验，或者无需立即进行下游试验。可根据说明书推荐将试验产物保存于-20℃并安排后续试验。
-

## 操作步骤

1. DNA片段经TIANSeq Fragment/Repair/Tailing Module 或TIANSeq End Repair/dA-Tailing Module处理，完成A尾添加反应后，向此50  $\mu\text{l}$ 反应体系中加入Y  $\mu\text{l}$ 的adapter溶液，轻柔吸打混匀后置于冰上。

**注意：**本试剂盒中不含测序DNA adapter，推荐配合TIANSeq Single-Indexed Adapter (Illumina) (NG214)使用，为了达到较高的连接效率，我们推荐反应体系中DNA片段与adapter的摩尔比在10:1至200:1之间，详见NG214产品说明书。

2. 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轻柔混匀后置于冰上。

组分名称	体积 ( $\mu\text{l}$ )
5 $\times$ Ligation Buffer	20
TIANSeq DNA Ligase	10
Nuclease-Free ddH <sub>2</sub> O	(20-Y)
总体积	(50-Y)

**注：**对于多个样品，请计算所需试剂的总体积并在此基础上额外添加10%的试剂，以避免分装过程中枪头挂壁损失而导致试剂体积不足。

3. 将此配制好的(50-Y)  $\mu\text{l}$ 连接反应液加入至第1步准备的反应液中，轻柔吸打混匀10次后置于预设温度为20 $^{\circ}\text{C}$ 的金属浴或PCR仪中反应15 min。

**注意：**此步骤如果使用PCR仪进行反应，PCR仪热盖温度设定为 $\leq 40^{\circ}\text{C}$ 。

4. 接头连接产物的纯化推荐使用TIANSeq Size Selection DNA Beads (NG306)，向反应产物中加入1 $\times$ 体积(100  $\mu\text{l}$ )磁珠进行纯化，具体步骤如下：

- 1) 将磁珠置于室温平衡20 min。
- 2) 涡旋使磁珠充分悬浮，加入100  $\mu\text{l}$ 磁珠至步骤3连接产物中，充分吸打混匀10次。
- 3) 室温孵育5 min后，将反应管置于磁力架上5 min。待磁珠完全贴壁后，用移液器吸弃上清。
- 4) 将反应管置于磁力架上，用200~500  $\mu\text{l}$ （没过磁珠即可）80%乙醇（现用现配）洗涤磁珠，用移液器轻轻吹打3~5次（不要吹散磁珠）。磁力架上静置30 sec后，用移液器小心吸弃上清。



TIANGEN 官方微信，专业服务助力科研：

- 可视化操作指南
- 技术公开课合辑
- 全线产品查询
- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动

5) 重复此洗涤步骤一次。

6) 将反应管置于磁力架上，打开离心管盖于室温条件下晾置5~10 min或至磁珠干燥为止。

**注：不要过分干燥磁珠，否则会造成得率降低。**

7) 将PCR管从磁力架中取出，加入22.5  $\mu\text{l}$  10 mM Tris-HCl (pH8.0) 进行洗脱，使用移液器吹打充分混匀10次。室温静置5 min后，置于磁力架上5min，待磁珠完全贴壁后，转移约20  $\mu\text{l}$ 上清至新的离心管中，用于后续的PCR富集实验。

8) 如进行DNA长度分选，加入102.5  $\mu\text{l}$  无核酸酶去离子水进行洗脱。并转移约100  $\mu\text{l}$ 上清至新的离心管中，用于后续的DNA片段长度分选。

**注：如果需要对DNA片段大小进行选择，则请参照TIANSeq DirectFast DNA Library Kit (illumina) (NG101) 说明书中片段分选步骤进行操作。如果连接产物无需进行PCR富集，可在步骤7)中加入12.5  $\mu\text{l}$ 的10 mM Tris-HCl (pH 8.0) 洗脱DNA，并转移10  $\mu\text{l}$ 纯化后的DNA用于后续的试验反应。如不立即使用，请将样品冻存于-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。**