

Hieff NGS[®] OnePot Pro DNA Library Prep Kit V2

一步法 DNA 建库试剂盒 V2

Cat No.12195

使用说明书
Product Manual



目 录







产品信息	1
产品描述	1
产品组分	1
运输与保存方法	1
注意事项	1
使用方法	4

产品信息






产品名称	产品编号	规格
Hieff NGS® OnePot Pro DNA Library Prep Kit V2 一步法 DNA 建库试剂盒 V2	12195ES08	8 T
	12195ES24	24 T
	12195ES96	96 T

产品描述

Hieff NGS® OnePot Pro DNA Library Prep Kit V2 是一款可用于 Illumina® 和 MGI® 高通量测序平台的新一代酶切法建库试剂盒。与传统的建库法比较，本品采用高质量的片段化酶，摆脱了繁琐的超声过程，同时简化了操作流程，将片段化模块与末端修复模块合二为一，极大的降低了建库的时间和成本。本试剂盒具有优秀的文库转化率，可应用于常规动植物基因组、微生物基因组等样本，同时能兼容 FFPE DNA 样本的建库。在前一代建库试剂盒的基础上，改进了片段化/末修/加 A 模块，降低了试剂对样本的 GC 偏好性，提高了末修/加 A 的效率和试剂的稳定性；本试剂盒使用了最新优化的连接酶，改善了接头连接效率。同时，本试剂盒可搭配 Illumina® 或 MGI® 的接头和 Primer，用于 Illumina® 和 MGI® 高通量测序平台测序。

-  适用 100 pg - 1 µg 的基因组 DNA、全长 cDNA 等样本
-  高质量片段化酶，可随机切割双链 DNA，酶切片段偏好性低
-  片段化、末端修复/加 A 一步完成
-  强扩增效率的高保真酶，显著提高文库质量及产量
-  适用于 FFPE DNA 样本
-  严格的批次性能与稳定性质控

产品组分

组分编号	组分名称	产品编号/规格		
		12195ES08	12195ES24	12195ES96
12195-A	 Smearase® Buffer 2.0	80 µL	240 µL	960 µL
12195-B	 Smearase® Enzyme 2.0	80 µL	240 µL	960 µL
12195-C	 Ligation Enhancer 2.0	240 µL	720 µL	3×960 µL
12195-D	 Rapid DNA Ligase 2.0	40 µL	120 µL	480 µL
12195-E	 Canace® Pro Amplification Mix	200 µL	600 µL	3×800 µL

注：本试剂盒组分兼容 Illumina 和 MGI 双平台，如果适配完整接头，需要额外配置专属于 Illumina® 或者 MGI® 的 primer mix (Cat#12190 Hieff NGS® DNA Library Prep Primer Mix for Illumina® 或 Cat#12191 Hieff NGS® DNA Library Prep Primer Mix for MGI®)。

运输与保存方法

干冰运输。-25~-15 °C 保存，有效期 1 年。

注意事项

一、关于操作

- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 请于使用前将试剂盒各组分置于室温解冻。解冻后上下颠倒数次充分混匀，短暂离心后置于冰上待用。
- 配制各步骤反应液时推荐使用移液器吹打混匀或轻轻振荡，剧烈振荡可能会造成文库产出下降。
- 为避免样品交叉污染，推荐使用带滤芯的枪头，吸取不同样品时请更换枪头。
- 推荐在带热盖的 PCR 仪中进行各步骤反应，使用前应预热 PCR 仪至反应温度附近。

6. PCR 产物因操作不当极容易产生气溶胶污染，进而影响实验结果准确性。推荐将 PCR 反应体系配制区和 PCR 产物纯化检测区进行强制性的物理隔离；使用专用的移液器等设备；并定时对各实验区域进行清洁（使用 0.5%次氯酸钠或 10%漂白剂进行擦拭清理），以保证实验环境的洁净度。

7. 本产品仅作科研用途！

二、关于 DNA 片段化

1. 本试剂盒兼容范围为 100 pg - 1 μg Input DNA。应尽可能使用 $A_{260}/A_{280} = 1.8-2.0$ 的高质量 Input DNA。
2. 若 Input DNA 中引入高浓度金属离子螯合剂或其他盐，可能会影响后续实验，建议将 DNA 稀释在 ddH₂O 中进行片段化。
3. 对于常规的高质量基因组 DNA，酶切时间参考表 7，本试剂盒片段化偏好性低，耐受各种 GC 含量的模板。表 7 为推荐时间，需客户在自己的实验体系中进行微调，以达到最佳效果。
4. 为保证优质精确的片段化效果，片段化反应配制过程请于冰上操作。

三、关于接头连接 (Adapter Ligation)

1. 针对 Illumina®测序平台，Yeasen 可提供如下接头：
 - a. Hieff NGS® Complete Adapter Kit for Illumina®, Set 1~Set 2 (Cat#13519~Cat#13520)，试剂盒中的接头浓度为 15 μM；
 - b. Hieff NGS® 384 CDI Primer for Illumina®(Cat#12412~Cat#12413)，试剂盒中的接头浓度为 15 μM；
 - c. Hieff NGS® Stubby UDI Primer Kit for Illumina® (Cat#12404~Cat#12407)，试剂盒中的接头浓度为 15 μM；
 - d. Hieff NGS® Dual UMI UDI Adapter Kit for Illumina®, Set1~Set2 (Cat#13370~Cat#13371)，试剂盒中的接头浓度为 15 μM。
2. 针对 MGI®高通量测序平台，Yeasen 可提供如下接头：
 - a. Hieff NGS® Complete Adapter Kit for MGI®, Set 1~Set 3 (Cat#13360 ~ Cat#13362)，试剂盒中的接头浓度为 10 μM；
 - b. Hieff NGS® 384 CDI Primer for MGI®, Set 1~Set 2 (Cat#13363 ~ Cat#13364)，试剂盒中的接头浓度为 10 μM；
 - c. Hieff NGS® Unique Dual Barcode Primer Kit for MGI®, Set 1~Set 4 (Cat#13536 ~ Cat#13539)，试剂盒中的接头浓度为 10 μM；
 - d. Hieff NGS® Dual UMI UDB Adapter Kit for MGI®, Set 1~Set 2 (Cat#13367~Cat#13368)，试剂盒中的接头浓度为 10 μM。
3. Adapter 的质量和浓度直接影响连接效率及文库产量。Adapter 用量过高可能会产生较多 Adapter Dimer；用量较低可能会影响连接效率及文库产量；使用 Adapter 时根据 Input DNA 量用 TE Buffer 进行相应稀释。

表 1 列举了使用本试剂盒的不同 Input DNA 量推荐的针对 Illumina®测序平台常规和 UMI Adapter 的稀释方法。

表 2 列举了使用本试剂盒的不同 Input DNA 量推荐的针对 MGI®测序平台常规 Adapter 的稀释方法。

表 3 列举了使用本公司 Hieff NGS® Dual UMI UDB Adapter Kit for MGI®, Set 1~Set 2 (Cat#13367~Cat#13368)的不同 Input DNA 量推荐的 UMI Adapter 稀释方法。

表 1 100 pg-1 μg Input DNA 针对 Illumina®测序平台推荐的常规和 UMI Adapter 使用浓度

Input DNA	Adapter 稀释倍数	浓度
0.1ng ~ 1 ng	150 倍稀释	0.1 μM
1 ng ~ 10 ng	75 倍稀释	0.2 μM
10 ng ~ 25 ng	15 倍稀释	1 μM
25 ng ~ 100 ng	7.5 倍稀释	2 μM
100 ng ~ 1000 ng	3 倍稀释	5 μM

表 2 100 pg-1 μg Input DNA 针对 MGI®测序平台推荐的常规 Adapter 使用浓度

Input DNA	Adapter 稀释倍数	浓度
<1 ng	100 倍稀释	0.1 μM
1 ng ~ 10 ng	50 倍稀释	0.2 μM
10 ng ~ 25 ng	10 倍稀释	1 μM
25 ng ~ 100 ng	5 倍稀释	2 μM
100 ng ~ 1000 ng	2 倍稀释	5 μM

表 3 100 pg-1 μg Input DNA 针对 MGI®测序平台推荐的 UMI Adapter 使用浓度

Input DNA	Adapter 稀释倍数	浓度
5 ng ~ 25 ng	50 倍稀释	0.2 μM
25 ng ~ 100 ng	10 倍稀释	1 μM
100 ng ~ 1000 ng	4 倍稀释	2.5 μM

四、关于磁珠纯化与分选 (Bead-based Clean Up and Size Selection)

1. DNA 片段长度分选步骤可选择在末端修复/dA 尾添加之前，或接头连接后，或文库扩增后进行。
2. 当 Input DNA 质量≥50 ng，您可选择在接头连接后分选；如 Input DNA 质量<50 ng，建议您在文库扩增后进行分选。
3. Ligation Enhancer 中包含高浓度的 PEG，会对双轮分选产生显著影响。因此，如在接头连接后进行长度分选，必须先进行纯化步骤，再进行双轮分选步骤；如在末端修复/dA 尾添加之前或文库扩增后进行长度分选，可直接进行双轮磁珠分选步骤。
4. 磁珠使用前应先平衡至室温，否则会导致得率下降、分选效果不佳。
5. 磁珠每次使用前都应充分振荡混匀或使用移液器上下吹打充分混匀。
6. 转移上清时，请勿吸取磁珠，即使微量残留都将影响后续文库质量。
7. 磁珠漂洗使用的 80%乙醇应现用现配，否则将影响回收效率。
8. 进行长度分选时，初始样品体积应尽量≥ 100 μL，不足时请用超纯水补齐。以防因样品体积太小导致移液误差增大。
9. 产物洗脱前应将磁珠置于室温干燥。干燥不充分容易造成无水乙醇残留影响后续反应；过分干燥又会导致磁珠开裂进而降低纯化得率。通常情况下，室温干燥 3-5 min 足以让磁珠充分干燥。
10. DNA 纯化或长度分选产物如需保存，可使用 TE Buffer 洗脱，产物可于 4 °C 可保存 1-2 周，-20 °C 可保存 1 个月。

五、关于文库扩增 (Library Amplification)

文库扩增步骤需要严格控制扩增循环数。循环数不足，将导致文库产量低；循环数过多，又将导致文库偏好性增加、重复度增加、嵌合产物增加、扩增突变积累等多种不良后果。表 4 列举了使用本试剂盒，获得 1 μg 文库的推荐循环数。

表 4 100 pg-1 μg Input DNA 获得 1 μg 产物扩增循环数推荐表

Input DNA	1 μg 文库产量推荐 PCR 循环数
1000 ng	2 - 4
500 ng	2 - 4
250 ng	4 - 6
100 ng	5 - 7
50 ng	7 - 9
10 ng	9 - 11
5 ng	10 - 12
1 ng	12 - 15
100 pg	16 - 18

【注】：如果使用了不完整的接头，需要扩增至少 2 个循环，形成完整的接头。建库过程中若进行片段分选，扩增时请参照较高循环数扩增。

六、关于文库质检 (Library Quality Analysis)

1. 通常情况下，构建好的文库可通过长度分布检测和浓度检测来进行质量评价。
2. 文库浓度检测可使用：基于双链 DNA 荧光染料的方法，如 Qubit®、PicoGreen®等；基于 qPCR 绝对定量的方法。
3. 文库浓度检测不可使用：基于光谱检测的方法，如 NanoDrop®等。
4. 推荐使用 qPCR 方法进行文库浓度检测：Qubit®、PicoGreen®等基于双链 DNA 荧光染料的浓度测定方法时，无法有效区分单端连接 Adapter 的产物、两端均未连接 Adapter 的产物以及其他不完整双链结构产物；qPCR 绝对定量基于 PCR 扩增原理，仅定量样品中两端 Adapter 完整的文库（即可测序的文库），可排除单端或两端都不连接 Adapter 的不可测序文库干扰。
5. 文库长度分布检测，可通过 Agilent Bioanalyzer 2100 等基于毛细管电泳或微控流原理的设备进行检测。

使用方法

一、自备材料

1. 纯化磁珠: Cat#12601, Hieff NGS® DNA Selection Beads 或 Cat#A63880, AMPure XP Beads 或其他等效产品。
2. DNA 质控: Agilent Technologies 2100 Bioanalyzer 或其他等效产品。
3. DNA Adapter: 接头详细介绍信息参考上面注意事项中的第三部分“关于接头连接”。
4. DNA Primer Mix: Cat#12190, DNA Library Prep Primer Mix for Illumina® 或 Cat#12191, DNA Library Prep Primer Mix for MGI®
5. 其他材料: 无水乙醇、灭菌超纯水、TE Buffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.0-8.5+1 mM EDTA)、低吸附 EP 管、PCR 管、磁力架、PCR 仪等。

二、操作流程

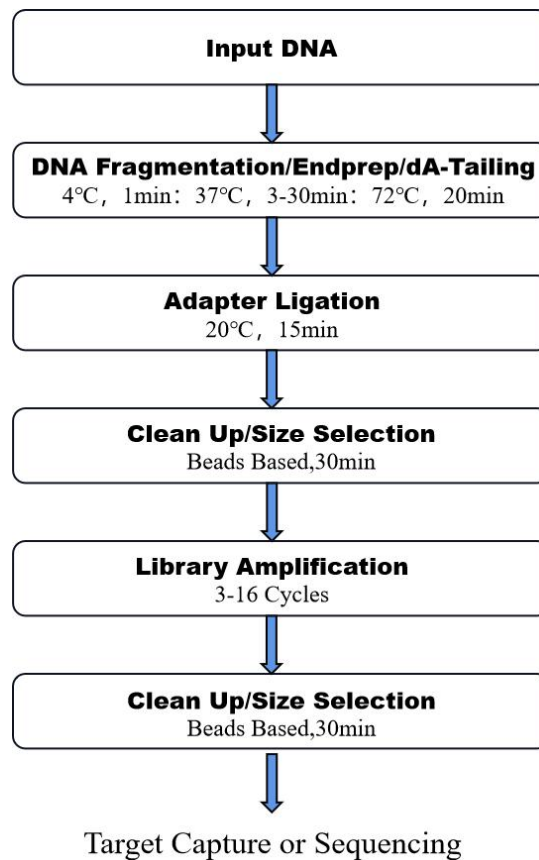


图 1 OnePot Pro DNA 建库试剂盒操作流程

三、操作步骤

3.1 DNA 片段化/末端修复/dA 尾添加 (DNA Fragmentation/End Repair/dA-Tailing)

该步骤将基因组 DNA 片段化, 同时进行末端修复及 dA 尾添加。

1. 将表 5 中各试剂解冻后, 颠倒混匀, 置于冰上备用。
2. 于冰上配制表 5 反应体系。

表 5 DNA 片段化/末端修复/dA 尾添加 PCR 反应体系

名称	体积 (μL)
Input DNA	x
Smearase® Buffer 2.0	10
Smearase® Enzyme 2.0	10
ddH ₂ O	Up to 60

- 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。
- 将上述 PCR 管置于 PCR 仪，设置表 6 所示反应程序，进行 DNA 片段化，末端修复及 dA 尾添加反应。

表 6 DNA 片段化/末端修复/dA 尾添加 PCR 反应程序

温度	时间
热盖 105 °C	On
4 °C	1 min*
37 °C	3-30 min**
72 °C	20 min
4 °C	Hold

【注】：*DNA 片段化过程为有效控制片段化效果，避免过度酶切，反应程序可预先设置 4 °C，待模块温度降至 4 °C 时，将 PCR 管放入 PCR 仪。

**对于完整的基因组 DNA，酶切时间参考表 7。

表 7 常规基因组 DNA 片段化时间选择表

插入片段主峰大小	片段化时间	优化范围
500~400 bp	5 min	3~5 min
300 bp	7 min	6~10 min
200bp	15min	10~20 min
150bp	30 min	25~30 min

3.2 接头连接 (Adapter Ligation)

该步骤将 3.1 步骤的产物末端，连接 Illumina®或 MGI®接头。

- 根据 Input DNA 量按第三部分推荐的接头使用浓度，稀释 Adapter 至合适浓度。
- 将表 8 中各试剂解冻后颠倒混匀，置于冰上备用。
- 于 3.1 步骤 PCR 管中配制表 8 所示反应体系。

表 8 Adapter Ligation PCR 体系

名称	体积 (μL)
dA-tailed DNA (3.1 步骤产物)	60
Ligation Enhancer 2.0	30*
DNA Adapter	5**
Rapid DNA Ligase 2.0	5

【注】：*Ligation Enhancer 比较粘稠，请上下颠倒、振荡，充分混匀并瞬时离心后使用。

**本公司接头浓度与常规商业化试剂盒一致，Illumina®平台皆为 15 μM，MGI®平台皆为 10 μM；具体的接头使用量可以参照表 1 到表 3。

- 使用移液器轻轻吹打或振荡混匀，并短暂离心将反应液收集至管底。
- 将 PCR 管置于 PCR 仪中，设置表 9 所示反应程序，进行接头连接反应。

表 9 Adapter Ligation PCR 反应程序

温度	时间
热盖 105 °C	Off
20 °C	15 min
4 °C	Hold

【注】：当 Input DNA 量较低，实验效果不理想时，可尝试将连接时间延长一倍。

3.3 连接产物磁珠纯化 (Post Ligation Clean Up)

该步骤使用磁珠对 3.2 步骤的产物进行纯化或分选。纯化可除去未连接的 Adapter 或 Adapter Dimer 等无效产物。

3.3.1 纯化操作步骤

1. 准备工作：将 Hieff NGS® DNA Selection Beads 磁珠由冰箱中取出，室温平衡至少 30 min。配制 80%乙醇。
2. 涡旋振荡或充分颠倒磁珠以保证充分混匀。
3. 将 Adapter Ligation 产物充分离心，然后吸取 60 μL Hieff NGS® DNA Selection Beads (0.6×, Beads:DNA=0.6:1)至 Adapter Ligation 产物中，涡旋振荡或使用移液器轻轻吹打至充分混匀，室温孵育 5 min。
4. 将 PCR 管短暂离心并置于磁力架中分离磁珠和液体，待溶液澄清后（约 5 min），小心移除上清；待移除大部分上清后可短暂离心再次置于磁力架中，换用 10 μL 的枪头彻底吸净残留液体。
5. 保持 PCR 管始终置于磁力架中，加入 200 μL 新鲜配制的 80%乙醇漂洗磁珠，室温孵育 30 sec 后，小心移除上清。
6. 重复步骤 5，总计漂洗两次，最后一次漂洗结束，要彻底吸净乙醇。
7. 保持 PCR 管始终置于磁力架中，开盖空气干燥磁珠至刚刚出现龟裂（不超过 5 min）。
8. 将 PCR 管从磁力架中取出，进行洗脱：
 - 1) 如产物无需进行片段分选，直接加入 21 μL ddH₂O，涡旋振荡或使用移液器轻轻吹打至充分混匀，室温静置 5 min。

【注】：如纯化产物如需保存，可使用 TE Buffer 洗脱。

- 2) 将 PCR 管短暂离心并置于磁力架中静置，待溶液澄清后（约 5 min），小心移取 20 μL 上清至新 PCR 管中，切勿触碰磁珠。

- 3) 如产物需进行双轮分选，加入 102 μL ddH₂O，涡旋振荡或使用移液器轻轻吹打至充分混匀，室温静置 5 min。

【注】：如纯化产物如需保存，可使用 TE Buffer 洗脱。

- 4) 将 PCR 管短暂离心并置于磁力架中静置，待溶液澄清后（约 5 min），小心移取 100 μL 上清至新 PCR 管中，切勿触碰磁珠。

3.3.2 双轮分选操作步骤：

1. 准备工作：将 Hieff NGS® DNA Selection Beads 磁珠由冰箱中取出，室温平衡约 30 min。配制 80%乙醇。
2. 请涡旋振荡或充分颠倒磁珠以保证混匀。
3. 根据 DNA 片段长度要求，参考表 10 向上述 100 μL DNA 上清中加入第一轮分选磁珠，涡旋混匀或移液器吹打 10 次混匀。

表 10 磁珠文库分选推荐比例

DNA 文库插入片段大小	150-250 bp	200-300 bp	300-400 bp	400-500 bp	500-600 bp
DNA 文库大小	250-350 bp	350-450 bp	450-550 bp	550-650 bp	650-750 bp
第一轮体积比 (Beads:DNA)	0.80×	0.70×	0.60×	0.55×	0.50×
第二轮体积比 (Beads:DNA)	0.20×	0.20×	0.20×	0.15×	0.15×

【注】：表中“×”表示样品 DNA 体积。如文库插入片段长度为 250 bp，样品 DNA 体积为 100 μL，则第一轮分选磁珠使用体积为 0.70×100 μL=70 μL；第二轮分选磁珠使用体积为 0.20×100 μL=20 μL；表中所推荐比例是针对 Adapter Ligated Insert DNA (Post Ligation)，如果用户在接头连接前进行分选，请采用 Hieff NGS® DNA Selection Beads (Cat#12601)说明书中推荐的比例。

4. 室温孵育 5 min。

5. 将 PCR 管短暂离心并置于磁力架中，待溶液澄清后（约 5 min），小心转移上清到干净的离心管中。

6. 参考表 10 向上清中加入第二轮分选磁珠。
7. 涡旋混匀或移液器吹打 10 次混匀，室温静置 5 min。
8. 将 PCR 管短暂离心并置于磁力架中，待溶液澄清后（约 5 min），小心移除上清。
9. 保持 PCR 管始终处于磁力架中，加入 200 μ L 新鲜配制的 80%乙醇漂洗磁珠，室温孵育 30 sec，小心移除上清。
10. 重复步骤 9，总计漂洗两次，最后一次漂洗结束，要彻底吸净乙醇。
11. 保持 PCR 管始终处于磁力架中，开盖干燥磁珠至刚刚出现龟裂（约 5 min）。
12. 将 PCR 管从磁力架中取出，加入适量 21 μ L ddH₂O，涡旋振荡或使用移液器轻轻吹打充分混匀，室温静置 5 min。
13. 将 PCR 管短暂离心并置于磁力架中分离磁珠和液体。待溶液澄清后（约 5 min），小心转移 20 μ L 上清至干净的管中。

3.4 文库扩增 (Library Amplification)

该步骤将对纯化或长度分选后的接头连接产物进行 PCR 扩增富集。

1. 将表 11 中试剂解冻后颠倒混匀，置于冰上备用。
2. 于无菌 PCR 管中配制表 11 所示反应体系。

表 11 PCR 扩增反应体系

名称	体积 (μ L)
Adapter Ligated DNA (3.3 步骤产物)	20
Canace® Pro Amplification Mix	25
Primer Mix**	5*

【注】：*Primer Mix 针对不同测序平台，选用与平台对应的 Adapter 和 Primer Mix。

**如果使用的是 Illumina 完整长接头，请使用 DNA Library Prep Primer Mix for Illumina (Cat#12190) 试剂盒中的 Primer Mix 进行扩增；如果使用的是 MGI 单端长接头，请使用 DNA Library Prep Primer Mix for MGI (Cat#12191) 试剂盒中的 Primer Mix 进行扩增；如果使用了两个平台不完整的接头，请参照各自接头试剂盒说明书，使用其中配备的 Index Primer 进行扩增。

3. 使用移液器轻轻吹打或振荡混匀，并短暂离心将反应液收集至管底。
4. 将 PCR 管置于 PCR 仪中，设置表 12 所示反应程序，进行 PCR 扩增。

表 12 PCR 扩增反应程序

温度	时间	循环数
98 °C	1 min	1
98 °C	10 sec	参照注意事项中表 4
60 °C	30 sec	
72 °C	30 sec	
72 °C	5 min	1
4 °C	Hold	-

3.5 扩增产物磁珠纯化或分选 (Post Amplification Clean Up/Size Selection)

同 3.3.1 步骤中纯化操作步骤。使用 Hieff NGS® DNA Selection Beads (0.9 \times , Beads:DNA=0.9:1) 纯化文库扩增产物。如需分选，操作方法同 3.3.2 双轮分选步骤。

3.6 文库质量控制

通常情况下，构建好的文库可通过浓度检测和长度分布检测来进行质量评价，具体请参见注意事项六。

四、实验实例

1. 不同片段化时间得到的插入片段大小

以 500 ng 常规 gDNA 为模板，使用本试剂盒构建文库，片段化条件分别为 37°C 5/10/15/20/30 min，片段化产物 1.2× 磁珠纯化，21 μL ddH₂O 洗脱，Qubit 测定浓度后，稀释至 2 ng/μL 跑 Qsep，回收的插入片段分布如下图所示。

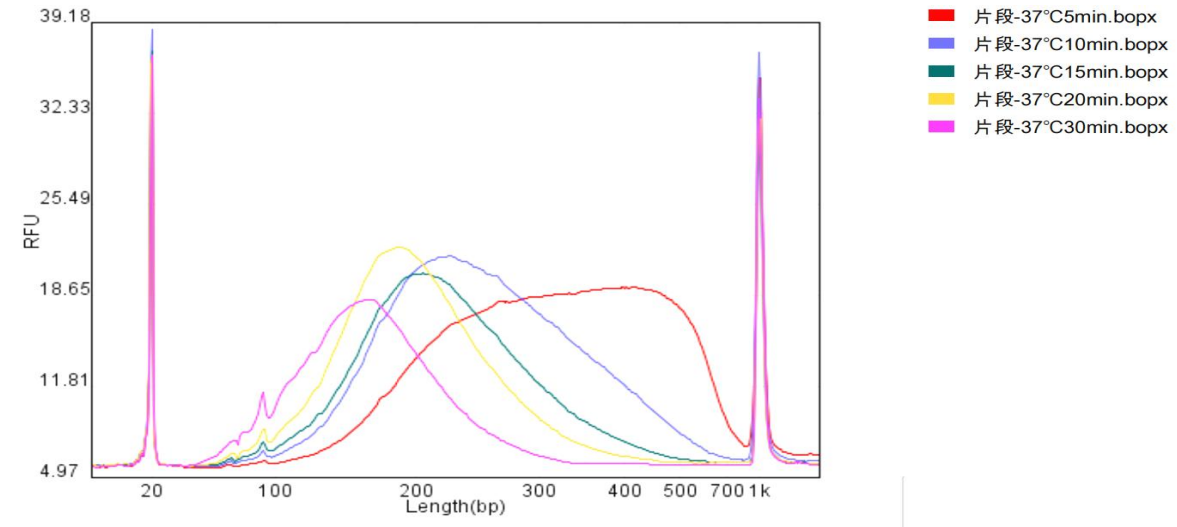


图 2 不同片段化时间酶切片分布图

2. 不同片段化时间建库实验

以 100 ng 常规 gDNA 为模板，使用本试剂盒构建文库，片段化条件分别为 37°C 5/10/15/20/30 min，PCR 扩增 6 个循环，最终文库分布如下图所示。使用接头为 Hieff NGS® Stubby UDI Primer Kit for Illumina® (Cat#12404~Cat#12407)。

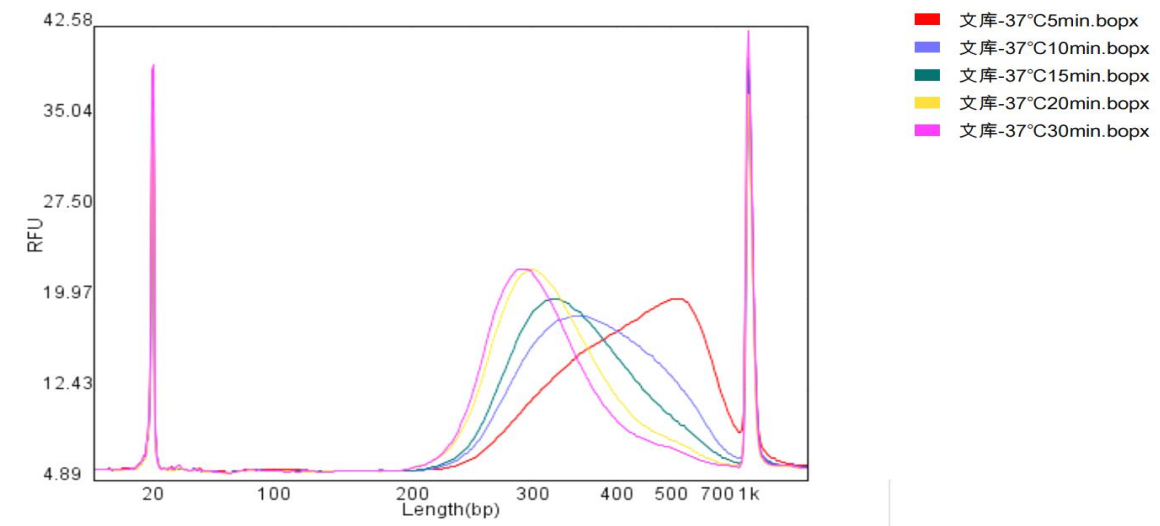


图 3 不同片段化时间文库分布图

3. 不同投入量建库实验

以常规 gDNA 为模板，投入量从 100 pg ~ 1 μg，循环数从 14 ~ 4 个不等，使用本试剂盒构建文库，统一酶切 15 min，100 pg 投入量的 gDNA 建库产量可达到 600 ng 以上，且文库大小均一如下图。使用接头为 Hieff NGS® Complete Adapter Kit for MG1®, Set 1~Set 3 (Cat#13360 ~ Cat#13362)。

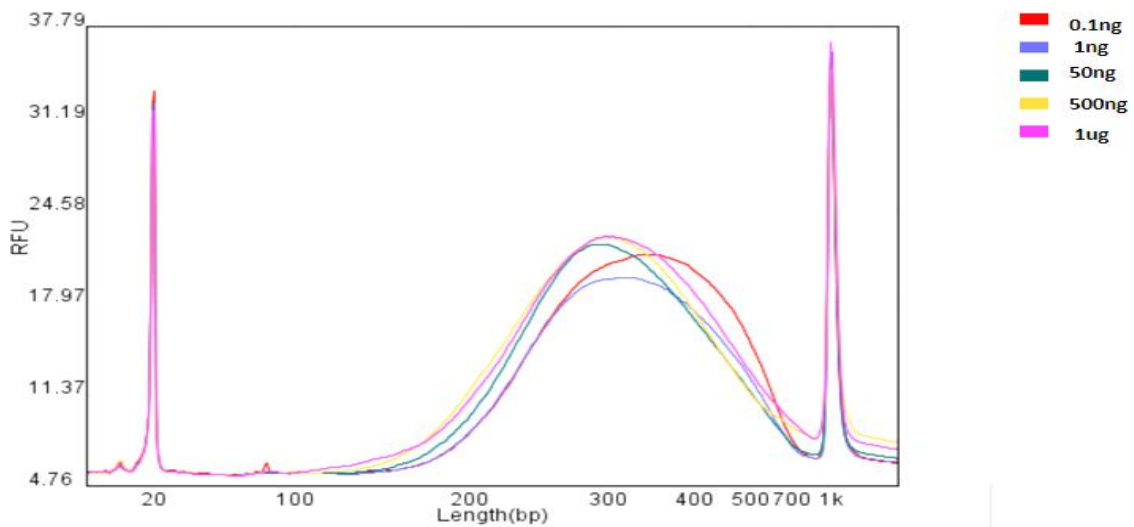


图4 不同投入量建库结果

4. 不同物种建库实验

以常见动植物样本 gDNA 为模板，统一 100 ng 投入量酶切 15 min 使用本试剂盒构建文库，在相同的建库条件下得到的文库大小均一如下图。使用接头为 Hieff NGS® Stubby UDI Primer Kit for Illumina® (Cat#12404~Cat#12407)。

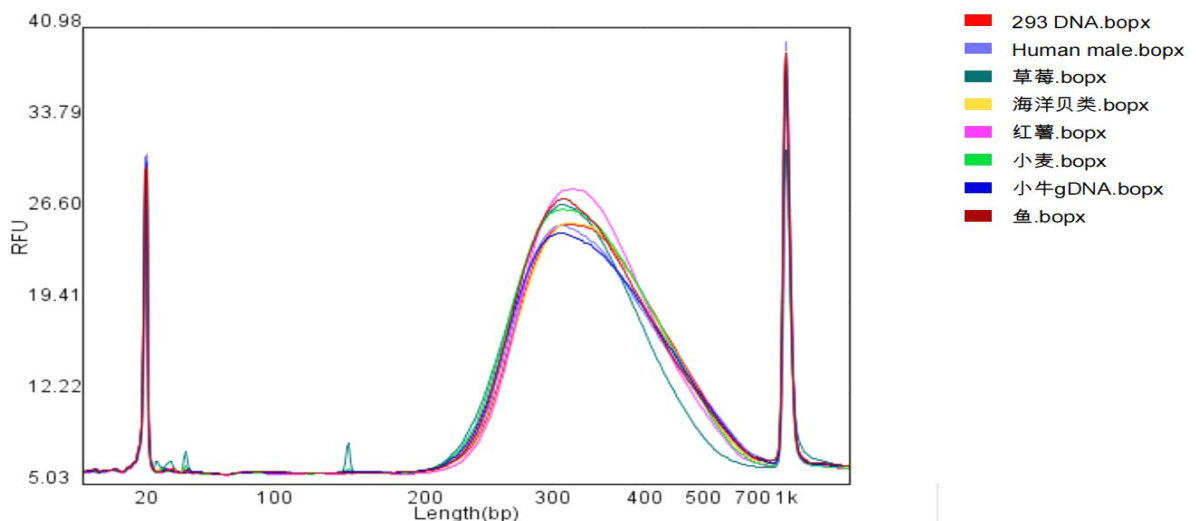


图5 不同物种建库结果

5. 不同质量度的 FFPE 样本建库

本试剂盒可以做到不同质量度的 FFPE 样本相同酶切时间，得到的文库大小一致。一般 FFPE 样本酶切 15 min 可以得到主峰在 300 bp 左右的文库，如果要文库主峰在 300~400 bp，可酶切 8 min，然后在连接后进行双轮分选，分选比例为 0.65×；0.2×。

以低中高不同质量度的 FFPE 样本为模板，50 ng 投入量使用本试剂盒构建文库，酶切 15 min 建库，得到的文库大小均一如下图。使用接头为 Hieff NGS® Stubby UDI Primer Kit for Illumina® (Cat#12404~Cat#12407)。

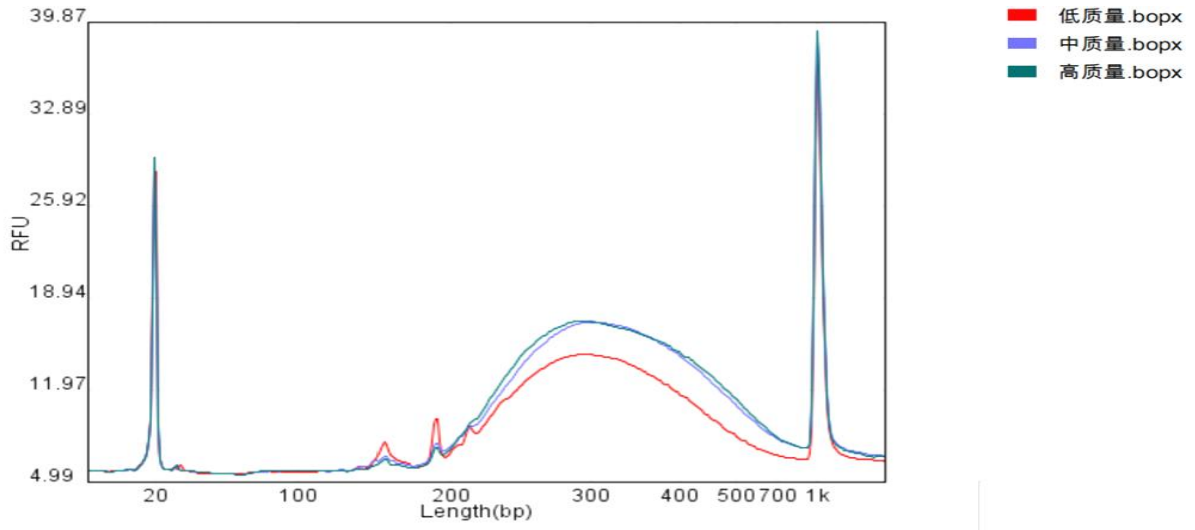


图6 不同质量度 FFPE 样本建库结果

Good science

Good products

翌圣生物科技（上海）股份有限公司

服务电话:400-6111-883

咨询邮箱:marketing@yeasen.com

网 址:www.yeasen.com

地 址:上海市浦东新区国际医学园区天雄路166号1号楼402室

