

Hieff NGS[®] Ultima DNA Ligation Module

快速 DNA 连接模块

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hieff NGS [®] Ultima DNA Ligation Module 快速 DNA 连接模块	12604ES24	24 T
	12604ES96	96 T
	12604ES98	960T

产品描述

Hieff NGS[®] Ultima DNA Ligation Module 是针对 Illumina[®]与 MGI[®]高通量测序平台文库构建专业设计的 DNA 连接模块，其中最大的亮点为本产品采用一款我公司自主研发的高效连接酶 Fast T4 DNA ligase。本产品可在双链平末端 DNA 片段或双链 3'-dA DNA 片段的两端连接 Illumina[®]与 MGI[®]测序平台适用的 DNA 接头，具有连接效率高、简便、可实现自动化等优势。

本产品已与 Hieff NGS[®] Ultima Endprep Mix (Cat#12605)，2×Super Canace[®] II High-Fidelity Mix for Library Amplification (Cat#12621) 共同用于 DNA 文库构建，通过 Illumina[®]高通量平台测序验证其有效性。

本产品已与 Hieff NGS[®] Ultima Endprep Mix (Cat#12605)、2×Ultima HF Amplification Mix for MGI[®] (Cat#13344) 共同用于 DNA 文库构建，通过 MGI[®]高通量平台测序验证其有效性。

本产品中提供的所有试剂组分，都经过严格的质量与功能验证，最大程度保障产品优异性能与批间稳定性。

产品组分

产品编号	组分名称	产品编号/规格		
		12604ES24	12604ES96	12604ES98
12604-A	Fast T4 DNA Ligase	120 μL	480 μL	4.8 mL
12604-B	5×Fast Ligation Buffer	480 μL	2×960 μL	2×9.6 mL

运输与保存方法

冰袋运输。

-20°C保存，效期一年。

注意事项

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
2. 本产品仅用作科研用途！

使用方法

1. 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。表 1 列举了使用本试剂盒，不同 Input DNA 量推荐的 Adapter 使用量。

表 1 500 pg-1 μg Input DNA 推荐的 Adapter 使用浓度

Input DNA	Adapter : Input DNA 摩尔比	Input DNA	Adapter : Input DNA 摩尔比
1 μg	10:1	50 ng	100:1
500 ng	20:1	25 ng	200:1
250 ng	40:1	1 ng	200:1
100 ng	100:1	500 pg	400:1

【注】: Input DNA 摩尔数 (pmol) \approx Input DNA 质量(ng) / [0.66 \times Input DNA 平均长度 (bp)]。

2. 目前主流的合并法 DNA 建库试剂盒, 其末端修复和加 A 处理后一般不纯化, 直接进行接头连接。本试剂盒可与主流的商业化末端修复加 A 体系兼容, 进行接头连接。反应体系请参考如下配制, 涡旋离心后置于 20°C, 反应 15 分钟即可。

表 2 Adapter Ligation 体系

名称	体积 (μ L)
dA-tailed DNA	60
5 \times Fast Ligation Buffer	20*
Fast T4 DNA Ligase	5
DNA Adapter	X**
ddH ₂ O	To 100

【注】: *对于 5 \times Fast Ligation Buffer, 请上下颠倒、振荡, 充分混匀并瞬时离心使用。

**根据自身需求加入适量的接头。

【接头添加计算举例】: 当 Input DNA 为 100 ng, Input DNA 长度为 300 bp 时, 接头应该添加多少?

第一步, 计算 Input DNA 摩尔数。公式: Input DNA 摩尔数 (pmol) \approx Input DNA 质量(ng) / [0.66 \times Input DNA 平均长度 (bp)];

$$\text{Input DNA 摩尔数 (pmol)} = 100 \div (0.66 \times 300) = 0.5 \text{ pmol};$$

第二步, 计算接头添加摩尔数。根据注意事项三表 2 查询接头添加比例;

根据表 2, 查得 Input DNA 100ng 时接头添加比例 100:1, 则接头添加摩尔数=100 \times 0.5 pmol=50 pmol;

第三步, 计算接头添加体积。接头浓度=15 μ mol/L (如使用其他接头, 浓度需要依据其他接头浓度参数);

$$\text{接头添加体积} = \text{接头添加摩尔数 (50 pmol)} \div \text{接头浓度 (15 } \mu\text{mol/L)} = 3.34 \text{ } \mu\text{L (注: 15 } \mu\text{mol/L} = 15 \text{ pmol/} \mu\text{L)}$$

综上, 接头可添加 3.4 μ L, 加 1.6 μ L 水补齐至 5 μ L。(注: 接头最大加入体积不超过 5 μ L)