

BeyoNGS™ DNA Library Quick-Prep Kit (For Illumina)

产品编号	产品名称	包装
D7103S	BeyoNGS™ DNA Library Quick-Prep Kit (For Illumina)	20次
D7103M	BeyoNGS™ DNA Library Quick-Prep Kit (For Illumina)	100次

产品简介:

- 碧云天生产的BeyoNGS™ DNA Library Quick-Prep Kit (For Illumina)，中文名为BeyoNGS™ DNA快速建库试剂盒(Illumina平台)。本试剂盒是针对于Illumina高通量测序平台研发的一款快速建库试剂盒，采用体外转座技术，仅需10分钟即可一步实现1-100ng DNA的片段化并添加上接头，无需经过传统文库制备时的片段化、末端修复、接头连接等繁琐步骤，随后使用本试剂盒进行PCR扩增就能获得适用于Illumina测序平台的高通量测序文库。本试剂盒具有DNA样品需求量低、操作方法简便、文库构建时间短等优点，适合于基因组DNA、PCR扩增产物或质粒等样品的片段化、接头连接及扩增。
- 二代测序(Next generation sequencing, NGS)，又称为高通量测序(High-throughput sequencing)或深度测序(Deep sequencing)，是基于PCR和基因芯片发展而来的新一代DNA测序技术。二代测序的实验操作步骤包括：样品准备(Sample preparation)、成簇(Cluster generation)、测序(Sequencing)和数据分析(Data analysis)。在二代测序中单个DNA分子必须扩增成由相同DNA组成的基因簇，然后通过同步复制来增强荧光信号强度从而解读出DNA序列。但是随着读长的增加，基因簇复制的协同性降低，导致测序质量下降，因此二代测序的准确读长会受到一定的限制，目前两端测序的情况下读长通常不超过500bp或600bp [1]。
- 本试剂盒的工作原理及流程步骤如图1所示。基因组DNA等DNA样品在BeyoNGS™ Tn5 Transposome的作用下通过Tagmentation (including DNA fragmentation and tagging)一步反应实现DNA片段化(Fragmentation)和接头连接，连接产物通过后续的PCR反应进行缺口填补，并借助双端标识PCR引物(Dual-Indexed PCR Primers)扩增后，制备成适用于Illumina二代测序平台的DNA文库，再经过DNA分选磁珠等方法去除大片段DNA、引物和PCR反应液等，最终得到片段大小符合预期的DNA文库用于二代测序[2-4]。

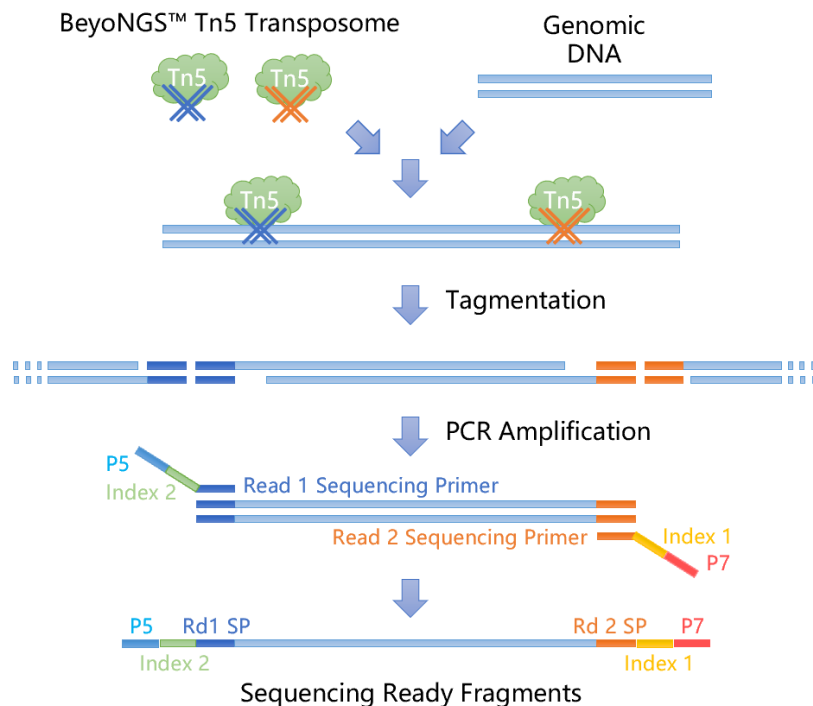


图1. BeyoNGS™ DNA Library Quick-Prep Kit (For Illumina) (D7103)的建库流程图。PCR扩增引物须根据实验需要自行准备。PCR扩增产物的长度主要集中在300bp左右，通常在200-500bp范围内。

- 本试剂盒提供了更适合文库扩增的BeyoNGS™ PCR Master Mix (2X)，使用了高保真、扩增速度快的DNA Polymerase，提供了优化的反应缓冲液，只需加入上一步骤获得的DNA片段与接头的连接产物及适当引物，大大简化了文库扩增操作，减少了PCR操作过程中可能导致的污染，而且扩增过程中的错误发生概率极低，确保文库扩增的保真度、高效率、均一性和可重复性。

- 本试剂盒不提供扩增反应所需的Dual-Indexed PCR Primers。碧云天提供的BeyoNGS™ Dual-Indexed Primers of Tagmentation Set1/2/3/4 (For Illumina) (D9021/D9022/D9023/D9024)，每个系列(Set)含有48种双端8bp索引序列(barcode)的组合引物，当4个系列一起使用可构建384种不同Barcode组合文库，用户可根据实验需求适当选择使用。
- **产品用途：**本试剂盒适用于将DNA样品制备成Illumina高通量测序平台专用文库。采用碧云天的BeyoNGS™ DNA Library Quick-Prep Kit (For Illumina)制备的DNA文库效果，请参考图2。

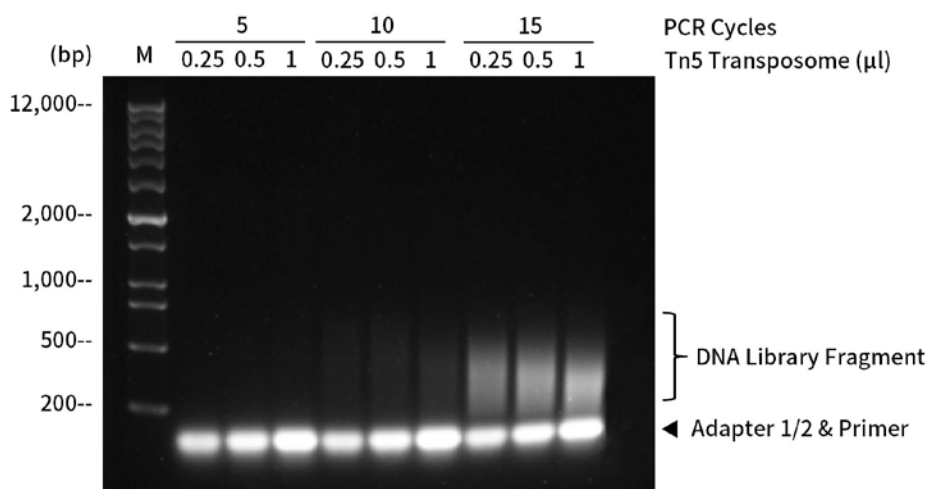


图2. 碧云天BeyoNGS™ DNA Library Quick-Prep Kit (For Illumina)制备的DNA文库效果图。在20μl反应体系中，加入100ng Lamda DNA及相应量的BeyoNGS™ Tn5 Transposome，55°C孵育5min，反应完毕加入5μl Stop Buffer (5X)，混匀后55°C孵育5min终止反应。产物经相应引物分别PCR扩增5、10和15个循环，得到的产物即为适用于Illumina二代测序平台的DNA文库(未进行片段大小分选)。加入适量 DNA上样缓冲液(6X) (D0071)，使用BeyoGel™琼脂糖预制胶(D0161)进行电泳检测。实际效果会因样品种类、检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

- 本试剂盒BeyoNGS™ Tn5 Transposome中的ME和接头(Adapters)的序列如下。
ME: 5'-p-CTGTCTCTTATACACATCT-3'-OH
Primer 1: 5'-OH-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG-3'-OH
Primer 2: 5'-OH-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG-3'-OH
注：上述接头序列与Nextera® DNA Sample Preparation Kit (Illumina, FC-121-1030/1031)或Nextera XT DNA Library Preparation Kit (Illumina, FC-131-1024/1096)一致。
- 按使用说明操作，如果每个反应使用1μl的BeyoNGS™ Tn5 Transposome (20μM)，本试剂盒小包装和中包装可分别进行20次和100次反应。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D7103S-1	BeyoNGS™ Tn5 Transposome (20μM)	20μl
D7103S-2	Reaction Buffer (5X)	200μl
D7103S-3	Stop Buffer (5X)	250μl
D7103S-4	BeyoNGS™ PCR Master Mix (2X)	0.6ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D7103M-1	BeyoNGS™ Tn5 Transposome (20μM)	100μl
D7103M-2	Reaction Buffer (5X)	1ml
D7103M-3	Stop Buffer (5X)	1.25ml
D7103M-4	BeyoNGS™ PCR Master Mix (2X)	3ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20°C保存，一年有效。

注意事项：

- 本试剂盒中的BeyoNGS™ Tn5 Transposome (20μM)储存溶液含50%甘油，在-20°C保存不会冻结。须避免-80°C保存，否则会冻结，反复冻融可能会影响Tn5转座酶的活性。

- 本试剂盒中的BeyoNGS™ Tn5 Transposome (20μM)较为粘稠，吸取时注意取样量准确，加样后请注意充分吹打混匀，避免产生气泡。
- 本试剂盒中的BeyoNGS™ Tn5 Transposome (20μM)的反应底物为DNA，不能用于RNA实验。
- BeyoNGS™ PCR Master Mix (2X)在使用前，一定要完全融化，并上下颠倒轻轻混匀后才能使用，尽量避免产生气泡。
- 所需的Ultrapure Water，推荐选购碧云天的BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile) (ST876)。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. DNA样品的定量。

因为Tn5 Transposome用量与DNA起始量密切相关，所以准确测定DNA浓度是实验的关键。纯化过的DNA样品溶于超纯水或10mM Tris-HCl (pH8.0)中，吸光度OD₂₆₀/OD₂₈₀应在1.8-2.0之间，并且DNA样品不含酚、乙醇等有机物的污染或超过1mM的EDTA，否则会影响DNA片段化和接头连接。推荐使用基于特异结合dsDNA的荧光染料法进行浓度测定，如Qubit荧光定量平台或PicoGreen荧光染料试剂盒。不推荐使用以紫外吸光度为基础的测定方法(如NanoDrop)，潜在污染的RNA或蛋白会干扰紫外吸光度的检测。

2. DNA片段化与接头连接。

- 室温融解Reaction Buffer (5X)和Stop Buffer (5X)，轻轻混匀。
- 按照下表依次添加各反应组分，轻轻吹打并确保充分混匀。如果样品数量比较多，可以将下表中样品之外的3种溶液预混合。

Components	Volume
DNA Sample	xμl (1-100ng)
Ultrapure Water	(15-x)μl
Reaction Buffer (5X)	4μl
BeyoNGS™ Tn5 Transposome (20μM)	1μl

- 按照如下程序在PCR仪上进行DNA片段化与接头连接反应。可根据DNA样品量和所需片段大小适当调整55°C的反应时间。

Step	Temperature
1	55°C, 5-10min
2	10°C, 10min

- 从PCR仪中取出样品，加入5μl Stop Buffer (5X)，轻轻吹打混匀后再次放回PCR仪中，55°C孵育5min以终止反应。此时获得的为DNA片段与接头的连接产物(DNA fragments with adapters)。

3. PCR扩增适用于Illumina二代测序平台的DNA文库。

- 按照下表依次添加各反应组分，轻轻吹打混匀。

Components	Volume
DNA fragments with adapters	24μl
i5 primer (10μM)	0.5μl
i7 primer (10μM)	0.5μl
BeyoNGS™ PCR Master Mix (2X)	25μl
Total Volume	50μl

- 将样品置于PCR仪中，反应程序设置如下。

Step	Temperature	Time	Cycles
1	68°C	3min	1
2	92°C	3min	1
3	92°C	30s	4-14*
4	68°C	90s	
5	68°C	10min	1
6	4°C	-	-

注：Step1, 68°C, 3min该步骤的目的是为了补平DNA文库末端缺口，此步骤不可省略。

* PCR循环数越多则DNA文库产量越高，但重复DNA文库数量也会增加，请根据测序需要选择适当的PCR循环数。不同起始DNA样品用量和不同循环数对应的DNA文库扩增后的大致产量参照下表：

DNA Sample	Cycles			
	11	12	13	14
1ng	11	12	13	14
5ng	8	9	10	11
20ng	6	7	8	9
50ng	4	5	6	7
PCR Products (ng)	400	600	1000	1500

4. **磁珠分选特定长度的DNA文库。**推荐使用BeyoMag™ DNA长度分选磁珠(D0038)或BeyoMag™ II DNA长度分选磁珠(D0039)的产品说明书或其它适当的DNA长度分选磁珠根据实验需要进行单侧或双侧的长度分选。具体的长度分选操作，请参考相应的产品说明书。自行制备的进行长度分选后的DNA文库就可以用于后续的高通量测序了。

参考文献：

1. Slatko BE, Gardner AF, Ausubel FM. *Curr Protoc Mol Biol.* 2018. 122(1):e59.
2. Picelli S, Björklund AK, Reinius B, Sagasser S, Winberg G, Sandberg R. *Genome Res.* 2014. 24(12):2033-40.
3. Bjornson M, Kajala K, Zipfel C, Ding P. *Bio Protoc.* 2020. 10(20):e3799.
4. Brouillette S, Kuersten S, Mein C, Bozek M, Terry A, Dias KR, et al. *Dev Dyn.* 2012. 241(10):1584-90.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D7102	BeyoNGS™ Tn5 Transposase	800/4000pmol
D7103	BeyoNGS™ DNA Library Quick-Prep Kit (For Illumina)	20/100次
D9021	BeyoNGS™ Dual-Index Primers of Tagmentation Set1 (For Illumina)	48种
D9022	BeyoNGS™ Dual-Index Primers of Tagmentation Set2 (For Illumina)	48种
D9023	BeyoNGS™ Dual-Index Primers of Tagmentation Set3 (For Illumina)	48种
D9024	BeyoNGS™ Dual-Index Primers of Tagmentation Set4 (For Illumina)	48种
D9037-Set01	BeyoNGS™ Bidirect Amp Dual-Index Primers Set01 (For Illumina)	96次, 24标签对
D9037-Set02	BeyoNGS™ Bidirect Amp Dual-Index Primers Set02 (For Illumina)	96次, 24标签对
D9037-Set03	BeyoNGS™ Bidirect Amp Dual-Index Primers Set03 (For Illumina)	96次, 24标签对
D9037-Set04	BeyoNGS™ Bidirect Amp Dual-Index Primers Set04 (For Illumina)	96次, 24标签对
D0038	BeyoMag™ DNA长度分选磁珠	1/5/20/100ml
D0039	BeyoMag™ II DNA长度分选磁珠	1/5/20/100ml

Version 2025.02.07