

仅供研究使用，不可用于临床诊断

如有问题，请联系：

🌐 www.igenetech.com/support

📞 010-89146623

✉ support@igenetech.com

IGT[®] Long-Read Tagment DNA Library Prep Kit 使用说明书

版本号：A.0，2023 年 4 月

文档号：PROT230401

样本提取

文库制备

靶向捕获

上机测序

数据分析

版本说明

生产公司：艾吉泰康（嘉兴）生物科技有限公司

使用说明

本说明书适用于 IGT® Long-Read Tagment DNA Library Prep Kit，使用前请仔细阅读本说明书，并且严格按照说明书内容进行实验操作。

试剂盒概述

IGT® Long-Read Tagment DNA Library Prep Kit 是一款转座酶法 DNA 建库试剂盒，可用于 1 µg DNA 起始的基因组文库构建，所构建的文库可用于三代测序中全基因组文库测序或目标区域杂交捕获测序。本试剂盒采用优化的反应体系，可在 4 小时内完成文库构建。

更新信息

使用说明书名称	修订日期	修订内容摘要
A.0	2023 年 4 月	首次发布

试剂盒组成

完整的文库构建实验流程需要建库模块和接头模块，可根据需求配套艾吉泰康的接头模块。

建库模块：IGT® Long-Read Tagment DNA Library Prep Kit

管盖颜色	组分	总量	保存温度
		16 rxn	
红色	Tagment Buffer	360 μ L	-20°C \pm 5°C
红色	Tagment Enzyme	180 μ L	
蓝色	Terminate Buffer	360 μ L	
白色	PCR Master Mix	450 μ L	

接头模块：IGT® UDI Primer

IGT® UDI Primer 1-16 (20 μ M each, for Long-Read NXT Library,tube)

管盖颜色	组分	总量	保存温度
		16*1 rxn	
白色	UDI Primer 1-16 (20 μ M each, for Long-Read NXT Library)	16*8 μ L	-20°C \pm 5°C

自备的试剂、仪器和耗材



以下为艾吉泰康推荐品牌, 也可以使用已有满足实验要求的替代试剂和耗材。

自备试剂

序号	试剂名称	推荐试剂	推荐品牌和货号
1	无水乙醇	无水乙醇	北京化工分析纯
2	Nuclease-Free Water	Nuclease-Free Water	Ambion (Cat # AM9930)
3	纯化磁珠 (任选一种使用)	Agencourt AMPure XP Kit	Beckman Coulter (Cat # A63880)
		IGT® Pure Beads	艾吉泰康 (Cat # C80661)
4	文库片段质检试剂 (请根据仪器选择对应的试剂盒使用)	Agilent DNA 1000 Kit	Agilent (Cat # 5067-1504)
		High Sensitivity DNA Kit	BiOptic (C105105-Q/C105205-Q)
5	Qubit 定量试剂	Qubit dsDNA HS Assay Kit	Thermo Fisher (Cat # C47257)

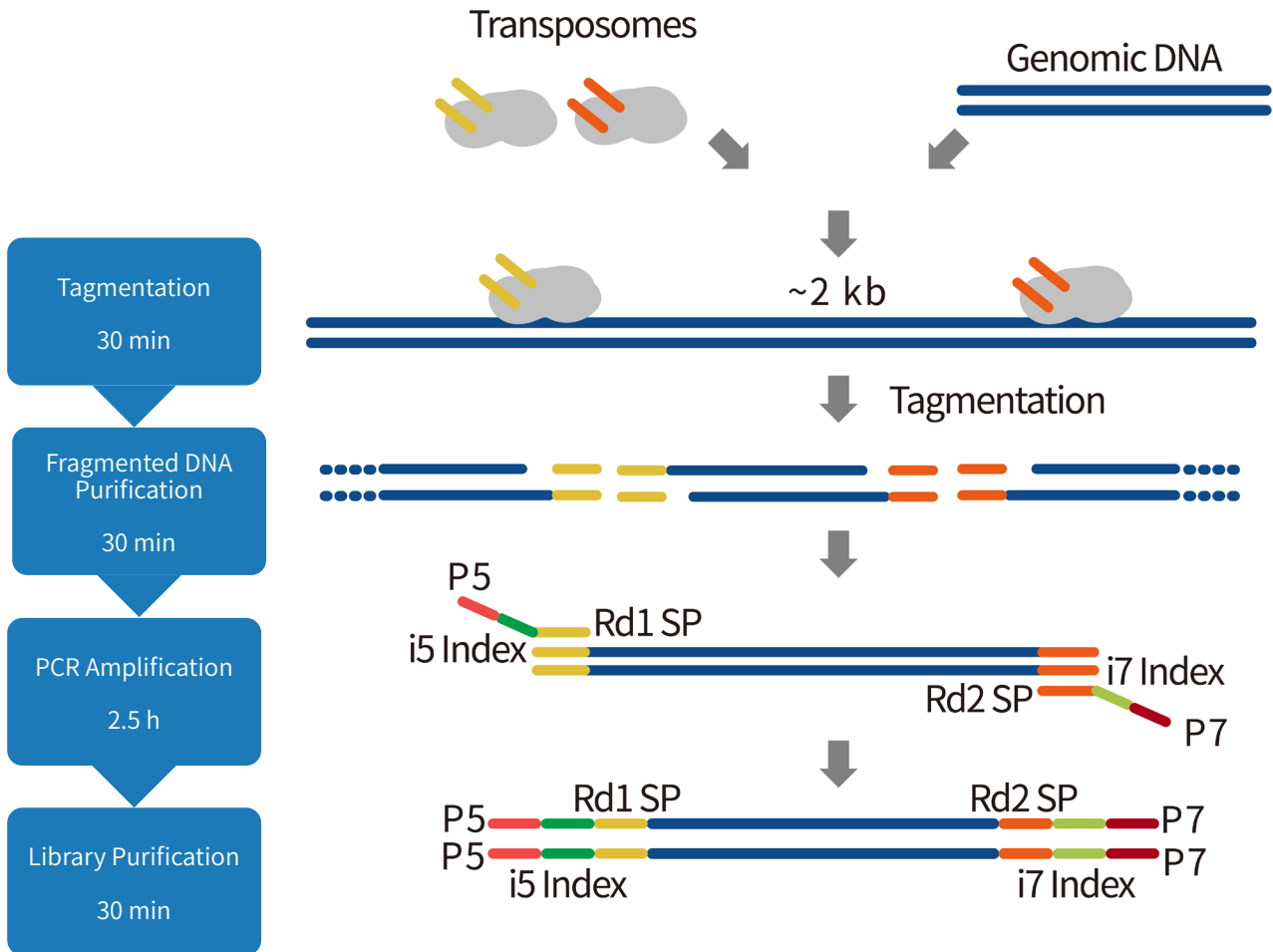
自备仪器

序号	仪器名称	推荐仪器	推荐品牌和货号
1	96 孔 PCR 管磁力架	DynaMag -96 Side	Thermo Fisher (Cat # 12331D)
2	涡旋振荡器	市面主流品牌	市面主流品牌
3	Qubit 荧光计	Qubit® 4.0 Fluorometer	Thermo Fisher (Cat # Q33226)
4	片段分析仪 (任选一种使用)	Agilent 2100 Bioanalyzer system	Agilent (Cat # G2939AA)
		Qsep 100	BiOptic (Cat # Qsep100)
5	微型离心机	市面主流品牌	市面主流品牌
6	冰盒	市面主流品牌	市面主流品牌
7	PCR 仪	市面主流品牌	市面主流品牌

自备耗材

序号	耗材名称	推荐耗材	推荐品牌和货号
1	Qubit 定量管 (0.5 mL)	市面主流品牌	市面主流品牌
2	0.2 mL PCR 管	市面主流品牌	市面主流品牌
3	0.2 mL 八连管	市面主流品牌	市面主流品牌
4	10 μ L 移液器枪头	市面主流品牌	市面主流品牌
5	200 μ L 移液器枪头	市面主流品牌	市面主流品牌

工作原理和流程图



STEP 1 Tagmentation

实验备注区

需要使用到的试剂：

- Tagment Buffer
- Tagment Enzyme
- Terminate Buffer
- Nuclease-Free Water

需要使用到的仪器：

- PCR 仪
- 微型离心机
- 涡旋振荡仪



本试剂盒所构建文库片段长度与 DNA 投入量相关，因此请使用 Qubit dsDNA HS Assay Kit 试剂在 Qubit 4.0 Fluorometer 上进行 DNA 浓度检测。

- 提前将 Tagment Buffer 和 Terminate Buffer 从 -20°C 冰箱中取出，置于冰盒上融化，涡旋混匀并瞬时离心，置于冰盒上备用。
- 将 Tagment Enzyme 从 -20°C 冰箱中取出，上下颠倒混匀，瞬时离心，置于冰盒上备用。
- 在冰盒上按下表配制 Tagmentation 反应体系：

试剂	体积
1 µg DNA	X µL
Nuclease-Free Water	70-X µL
Tagment Buffer	20 µL
Tagment Enzyme	10 µL
总体积	100 µL

- 使用移液器吸打混匀或上下颠倒混匀（避免剧烈振荡混匀），瞬时离心。
- 设置 PCR 仪参数如下，将 PCR 管置于 PCR 仪上，运行程序：

温度	时间
热盖温度 105°C	
55°C	10 min
4°C	Hold

- 程序结束后，立即向反应体系中加入 20 µL Terminate Buffer，并振荡混匀，瞬时离心。
- 设置 PCR 仪参数如下，将 PCR 管置于 PCR 仪上，运行程序：

温度	时间
热盖温度 105°C	
55°C	5 min
4°C	Hold

- 程序结束后，立即进行下一步反应。

STEP 2 Fragmented DNA Purification

实验备注区

需要使用到的试剂：

- 纯化磁珠 (IGT® Pure Beads)
- 80% 乙醇
- Nuclease-Free Water

需要使用到的仪器：

- 磁力架

- 2.1 提前用无水乙醇和 Nuclease-Free Water 配制 80% 乙醇，并置于室温备用，请尽量使用新鲜配制的 80% 乙醇用于磁珠纯化。
- 2.2 提前从 4°C 冰箱中取出纯化磁珠，混匀并置于室温平衡 30 min；将平衡至室温的纯化磁珠，涡旋混匀后备用。
- 2.3 在 STEP 1 完成后的 120 μ L 反应体系中加入 0.7 倍体积的磁珠 (84 μ L)，吸打或涡旋混匀，室温静置 5 min。
- 2.4 瞬时离心，将 PCR 管置于磁力架上 3 min，待溶液澄清。
- 2.5 保持 PCR 管在磁力架上，小心移弃上清，向 PCR 管内加入 200 μ L 80% 乙醇溶液，静置 30 s。
- 2.6 保持 PCR 管在磁力架上，移弃上清，再次向 PCR 管内加入 200 μ L 80% 乙醇溶液，静置 30 s，移弃上清。
- 2.7 瞬时离心，将 PCR 管置于磁力架上，小心使用 10 μ L 移液器移弃底部残留的乙醇，注意不要吸到磁珠。
- 2.8 保持 PCR 管在磁力架上，室温静置 3~5 min，晾干磁珠，使残留的乙醇彻底挥发。
- 2.9 加入 23 μ L Nuclease-Free Water，将 PCR 管从磁力架上取下，吸打或涡旋混匀，室温静置 2 min。
- 2.10 瞬时离心，将 PCR 管置于磁力架上 2 min，待溶液澄清。
- 2.11 用移液器吸取 20 μ L 上清液，转移到新的 PCR 管中，做好标记。
- 2.12 立即进行下一步 STEP 3。

STEP 3 PCR Amplification

实验备注区

需要使用到的试剂：

- UDI Primer
- PCR Master Mix

需要使用到的仪器：

- PCR 仪
- 微型离心机
- 涡旋振荡仪

- 3.1 提前将试剂盒中的 PCR Master Mix 从 -20°C 冰箱中取出，置于冰盒上融化，上下颠倒混匀，瞬时离心，置于冰盒上备用。
- 3.2 提前将试剂盒中 UDI Primer 从 -20°C 冰箱中取出，置于冰盒上融化，短暂涡旋混匀并瞬时离心，置于冰盒上备用。
- 3.3 在冰盒上配制 PCR 反应体系（请记录好所使用的 Index 号）：

试剂	体积
Step2 纯化产物	20 μ L
UDI Primer N ^[1] (20 μ M, for Long-Read NXT Library)	5 μ L
PCR Master Mix	25 μ L
总体积	50 μL

[1] N 为 index 编号。

- 3.4 使用移液器吸打混匀或上下颠倒混匀（避免剧烈振荡混匀），瞬时离心。
- 3.5 设置 PCR 仪程序如下，将反应体系置于 PCR 仪上，运行程序：

温度	时间	PCR 循环数
热盖温度 105°C		
72°C	10 min	1
95°C	1 min	1
95°C	20 s	6 cycles
60°C	30 s	
68°C	10 min	
68°C	5 min	1
4°C	Hold	1

- 3.6 程序结束后，立即进行下一步磁珠纯化。



此步骤产物可于 -20°C 保存一个月。

STEP 4 Library Purification

实验备注区

需要使用到的试剂：

- 纯化磁珠 (IGT® Pure Beads)
- 80% 乙醇
- Nuclease-Free Water

需要使用到的仪器：

- 磁力架

- 4.1 提前用无水乙醇和 Nuclease-Free Water 配制 80% 乙醇，并置于室温备用，请尽量使用新鲜配制的 80% 乙醇用于磁珠纯化。
- 4.2 提前从 4°C 冰箱中取出纯化磁珠，混匀并置于室温平衡 30 min；将平衡至室温的纯化磁珠，涡旋混匀后备用。
- 4.3 在 STEP 3 完成后的 50 μ L 反应体系中加入 1 倍体积的磁珠 (50 μ L)，吸打或涡旋混匀，室温静置 5 min。
- 4.4 瞬时离心，将 PCR 管置于磁力架上 3 min，待溶液澄清。
- 4.5 保持 PCR 管在磁力架上，小心移弃上清，向 PCR 管内加入 200 μ L 80% 乙醇溶液，静置 30 s。
- 4.6 保持 PCR 管在磁力架上，移弃上清，再次向 PCR 管内加入 200 μ L 80% 乙醇溶液，静置 30 s，移弃上清。
- 4.7 瞬时离心，将 PCR 管置于磁力架上，小心使用 10 μ L 移液器移弃底部残留的乙醇，注意不要吸到磁珠。
- 4.8 保持 PCR 管在磁力架上，室温静置 3~5 min，晾干磁珠，使残留的乙醇彻底挥发。
- 4.9 加入 100 μ L Nuclease-Free Water，将 PCR 管从磁力架上取下，吸打或涡旋混匀，室温静置 2 min。
- 4.10 瞬时离心，将 PCR 管置于磁力架上 2 min，待溶液澄清。
- 4.11 用移液器吸取 98 μ L 上清液，转移到新的 PCR 管中，做好标记。
- 4.12 取 1 μ L 文库使用 Qubit dsDNA HS Assay Kit 试剂在 Qubit 4.0 Fluorometer 上进行文库浓度检测，记录文库浓度。
- 4.13 取 1 μ L 文库使用片段分析仪进行文库片段长度检测。



网址: www.igenetech.com
邮箱: support@igenetech.com
电话: 010-89146623
总部地址: 北京市昌平区中关村生命科学园生命园路8号院一区9号楼A座3层
嘉兴子公司地址: 浙江省嘉兴市嘉善县大云镇宏业路371号2号楼

仅供研究使用, 不可用于临床诊断。

版权声明: 本手册版权属于艾吉泰康生物科技(北京)有限公司及其子公司所有, 未经本公司书面许可, 任何其他个人或组织不得以任何形式将本手册中的各项内容进行复制、拷贝、编辑或翻译成其他语言。本手册中所有商标或标识均属于艾吉泰康生物科技(北京)有限公司、其子公司及其所有者所有。

版本号: A.0, 2023年4月
文档号: PROT230401

官方微信

