

仅供研究使用，不可用于临床诊断

采用随机打断酶建库

适用于 Illumina 和 MGI 测序平台

兼容全基因组文库和杂交捕获文库构建

如有问题，请联系：

🌐 www.igenetech.com/support

📞 010-89146623

✉ support@igenetech.com

IGT[®] Enzyme Plus Library Prep Kit V3

使用说明书

版本号：A.0，2023 年 8 月

文档号：PROT230803

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® Enzyme Plus Library Prep Kit V3, 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® Enzyme Plus Library Prep Kit V3 是一款通用型酶切法 DNA 文库构建试剂盒。本试剂盒采用 DNA 片段化、末端修复和 3' 端加 dA 尾一步法操作, 更温和的酶反应速率, 片段更可控。通过连接相应的接头, 可构建 Illumina 或 MGI 测序平台的文库。该试剂盒构建文库时间最短仅需 2.5 h, 具有流程简捷、文库转化率高、样本兼容性广、Artifact Rate 低等优势, 适用于 5 ng~500 ng DNA 的全基因组测序和探针杂交捕获测序。

本试剂盒兼容多种样本类型: 基因组 DNA (提取自血液、血卡、唾液、口腔拭子、新鲜或冰冻组织、细胞等), 石蜡切片样本 DNA (FFPE DNA) 等样本。

更新信息

使用说明书版本号	修订日期	修订内容摘要
A.0	2023 年 8 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, 可根据需求选择配套的艾吉泰康接头模块。

建库模块: IGT® Enzyme Plus Library Prep Kit V3

管盖颜色	组分	总量		储存温度
		16 rxn	96 rxn	
红色	Enhancer Buffer E v3	88 µL	540 µL	-20°C ± 5°C
黄色	Fragment & ERA Buffer v3	180 µL	1080 µL	
黄色	Fragment & ERA Enzyme Mix v3	180 µL	1080 µL	
蓝色	Adapter Ligation Buffer v3	540 µL	2*1584 µL	
蓝色	Adapter Ligase v3	88 µL	540 µL	
白色	PCR Master Mix	450 µL	2*1350 µL	

接头模块: IGT® Adapter & Primer

请根据需求选择下列 IGT® Adapter & Primer 中的一种。

IGT® Adapter & UDI Primer (for Illumina / MGI)

管盖颜色	组分	总量		储存温度
		96*1 rxn	96*10 rxn	
蓝色	Adapter (15 µM)	540 µL	4*1350 µL	-20°C ± 5°C
板装或白色	UDI Primer N (10 µM each)*	8 µL each	96*75 µL	

*N 为 index 编号。

IGT® Adapter & Single-Indexed Primer (for MGI)

管盖颜色	组分	总量	储存温度
		96*1 rxn	
蓝色	Adapter (15 µM, for MGI SI)	540 µL	-20°C ± 5°C
白色	TPE 1.0 Primer (20 µM, for MGI)	264 µL	
板装	TPE 2.0 Indexed Primer N (20 µM, for MGI)*	4 µL each	

*N 为 index 编号。

IGT® UMI Adapter & UDI Primer (for Illumina / MGI)

管盖颜色	组分	总量		储存温度
		96*1 rxn	96*10 rxn	
蓝色	Insert UMI Adapter (15 µM)	540 µL	4*1350 µL	-20°C ± 5°C
板装或白色	UDI Primer N (10 µM each)*	8 µL each	96*75 µL	

*N 为 index 编号。

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	名称	推荐产品	供应商
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 (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)
		S2 Cartridge (Standard Cartridge)	BiOptic (Cat # C105101)
5	Qubit 定量试剂	Qubit dsDNA HS Assay Kit	Thermo Fisher (Cat # C47257)

自备仪器

序号	名称	推荐产品	供应商
1	96 孔 PCR 管磁力架	DynaMag-96 Side	Thermo Fisher (Cat # 12331D)
2	片段分析仪 (任选一种使用)	Agilent 2100 Bioanalyzer system	Agilent (Cat # G2939AA)
		Qsep 100	BiOptic (Cat # Qsep100)
3	核酸定量仪	Qubit® 4.0 Fluorometer	Thermo Fisher (Cat # Q33226)
4	热混匀仪, 0.2 mL 模块	Eppendorf ThermoMixer® C	Eppendorf (Cat # 5382000015)
5	涡旋振荡器	市面主流品牌	市面主流品牌
6	微型离心机	市面主流品牌	市面主流品牌
7	冰盒	市面主流品牌	市面主流品牌
8	PCR 仪	市面主流品牌	市面主流品牌

自备耗材

序号	名称	推荐产品	供应商
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 八联排管	市面主流品牌	市面主流品牌
4	10 µL 移液器枪头	市面主流品牌	市面主流品牌
5	200 µL 移液器枪头	市面主流品牌	市面主流品牌

文库制备工作流程图



使用前注意事项

欢迎选购艾吉泰康 IGT® Enzyme Plus Library Prep Kit V3，在使用前请仔细阅读以下注意事项：

- 试剂组分应避免反复冻融，若单次实验试剂使用量较少，建议分装后使用。
- 20℃ 保存的试剂，请在冰上融化，不可在室温或加热条件下融化。
- 试剂融化后，充分混匀并短暂离心后使用，确保试剂在管底，且已混合均匀。
- 实验中用到的 Buffer、引物等试剂，建议采用涡旋或移液器吸打的方式混匀；对于 Enzyme 试剂，建议将管子上下颠倒数次混匀，或移液器吸打混匀，避免剧烈振荡混匀影响酶的活性。
- PCR 管或 EP 管开盖前应短暂离心，确保样本或试剂在管底，以避免开盖过程中液体飞溅造成交叉污染。
- 建议在冰盒上配制反应体系。
- 本实验用到的纯化磁珠为 IGT® Pure Beads 或 AMPure XP Beads，如使用其它品牌纯化磁珠，为达到一致的实验结果，请提前测试磁珠用量。
- 使用磁珠纯化样品时，请提前将磁珠从 4℃ 冰箱取出，混匀后室温平衡 30 min 后再使用。
- 请使用新鲜配制的 80% 乙醇，不可采用已长时间放置的，避免乙醇挥发影响使用效果。

如果以上均满足，即可开始实验

STEP 1 DNA 样本准备和预处理

实验备注区

需要使用到的试剂：

- Nuclease-Free Water
- IGT® Pure Beads (可选)
- Enhancer Buffer E v3 (可选)

需要使用到的仪器：

- 磁力架 (可选)

1.1 样本要求

1.1.1 样本总量：本试剂盒适用于起始量为 5 ng~500 ng DNA 的文库构建，为了提升数据质量，建议 DNA 投入量不低于 50 ng。请使用荧光定量仪（如 Qubit 4.0 Fluorometer）进行 DNA 浓度检测，不可使用 Nanodrop 检测的浓度。

1.1.2 样本质量和纯度：经琼脂糖凝胶电泳检测可判断 DNA 完整性和蛋白残留情况。Nanodrop A260/A280 = 1.8-2.0；A260/A230 > 2.0。

! 如果 DNA A260/A280 远小于 1.8，可能存在较多的蛋白污染；如果 A260/A230 远小于 2.0，可能存在较多的胍盐等物质残留。

1.2 由于片段化酶对 EDTA 敏感，因此，在实验开始前，请先对 DNA 样本情况进行确认，并根据 DNA 样本情况选择预处理方式：

1.2.1 对于纯度符合要求，并且不含有 EDTA 的 DNA 样本，无需进行样本预处理，可以加入 Nuclease-Free Water 至总体积为 40 μL，直接进入 STEP 2 进行文库构建。

1.2.2 如 DNA 样本中含有 EDTA，或纯度不符合要求，例如存在较多蛋白和胍盐残留，推荐使用 2 倍体积的 IGT® Pure Beads 对 DNA 进行磁珠纯化，用 40 μL Nuclease-Free Water 洗脱后再进入 STEP 2 进行文库构建，具体操作可参考附录一。

1.2.3 如 DNA 样本中含有少量 EDTA，如果不进行磁珠纯化，可以选择加入 Enhancer Buffer E v3 和 Nuclease-Free Water 配制 40 μL DNA 体系，再进入 STEP 2 进行文库构建。

首先根据以下公式计算片段化体系中 EDTA 的终浓度：

$$\text{EDTA 终浓度} = \frac{\text{样本溶剂中 EDTA 的浓度 (mM)} \times \text{样本 DNA 体积 (}\mu\text{L)}}{\text{片段化体系体积 60 (}\mu\text{L)}}$$

$$\text{或 EDTA 终浓度} = \frac{\text{样本溶剂中 EDTA 的浓度 (mM)} \times \text{样本 DNA 投入量 (ng)}}{\text{样本 DNA 浓度 (ng/}\mu\text{L)} \times \text{片段化体系体积 60 (}\mu\text{L)}}$$

再根据计算出的 EDTA 终浓度加入相应体积的 Enhancer Buffer E v3：

片段化体系中 EDTA 的终浓度	Enhancer Buffer E v3 体积
<0.1 mM	0 μL*
0.1 mM	1 μL
0.2 mM	2 μL
0.3 mM	3 μL
0.4 mM	4 μL
0.5 mM	5 μL



* 当 DNA 样本溶剂是 Low TE (10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 0.1 mM EDTA) 时，不需要额外加入 Enhancer Buffer E v3。

STEP 2 DNA 片段化，末端修复，3' 端加 “A”

实验备注区

需要使用到的试剂：

- Fragment & ERA Buffer v3
- Fragment & ERA Enzyme Mix v3

需要使用到的仪器：

- 涡旋振荡器
- 微型离心机
- PCR 仪

- 2.1 提前将 Fragment & ERA Buffer v3 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。
- 2.2 将 Fragment & ERA Enzyme Mix v3 从 -20°C 冰箱中取出，上下颠倒混匀（避免剧烈振荡混匀），瞬时离心，置于冰盒上备用。
- 2.3 在 PCR 仪上设置如下反应程序。

温度	时间
	热盖温度 85°C
4°C	1 min
30°C	X min (酶切时间请参考下表)
65°C	20 min
4°C	Hold

! 以下酶切时间适用于完整、无降解的 gDNA。对于降解的 gDNA，建议适当缩短酶切时间。对于 FFPE DNA，建议酶切时间为 15~20 min，此时插入片段平均长度范围为 150~250 bp。

酶切时间	文库插入片段平均长度	测序数据插入片段平均长度
15 min	350 bp	280 bp
20 min	300 bp	265 bp
30 min	250 bp	230 bp
40 min	200 bp	200 bp
60 min	180 bp	180 bp

! 在文库上机测序时，会经过如环化、扩增等处理步骤，存在插入片段长度的偏好，基于测序数据计算出的插入片段长度比电泳检测到的插入片段长度短。

- 2.4 在冰盒上按下表配制反应体系：

试剂	体积
来自 STEP 1 的 DNA	40 μL
Fragment & ERA Buffer v3	10 μL
Fragment & ERA Enzyme Mix v3	10 μL
总体积	60 μL

! 片段化酶在常温下即可对 DNA 进行酶切，在 4°C 条件下也会有微弱的酶切活性，因此请在冰盒上配制反应体系。并且，请尽量缩短片段化酶与 DNA 在 PCR 仪外面的接触时间。

! 如果单次实验样本数量较多，为了提高样本间酶切片段长度的一致性，请先将 DNA 样本加入到管中，再快速加入 Fragment & ERA Buffer v3 和 Fragment & ERA Enzyme Mix v3 的预混液。

- 2.5 使用移液器吸打混匀（避免剧烈振荡混匀），瞬时离心。
- 2.6 运行 PCR 仪程序，待 PCR 仪温度降至 4°C 时，将 PCR 管置于 PCR 仪上。
- 2.7 程序结束后，立即进行下一步反应。

! 此步骤为不可暂停步骤，完成后请立即进行下一步。

STEP 3 接头连接

实验备注区

需要使用到的试剂：

- Adapter Ligation Buffer v3
- Adapter Ligase v3
- Adapter (15 μ M)

需要使用到的仪器：

- 涡旋振荡器
- 微型离心机
- PCR 仪

3.1 提前将 Adapter Ligation Buffer v3、Adapter (15 μ M) 从 -20 $^{\circ}$ 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。

3.2 将 Adapter Ligase v3 从 -20 $^{\circ}$ C 冰箱中取出，上下颠倒混匀（避免剧烈振荡混匀），瞬时离心，置于冰盒上备用。

3.3 根据建库投入的 DNA 量，将 Adapter (15 μ M) 提前稀释到合适的浓度：

DNA 起始量	接头浓度	稀释倍数
500 ng	15 μ M	不稀释
200 ng	15 μ M	不稀释
100 ng	15 μ M	不稀释
50 ng	15 μ M	不稀释
20 ng	7.5 μ M	稀释 2 倍
10 ng	3 μ M	稀释 5 倍
5 ng	1.5 μ M	稀释 10 倍

3.4 在冰盒上按下表配制反应体系：

试剂	体积
来自 STEP 2 反应结束的产物	60 μ L
Adapter (已稀释)	5 μ L
Adapter Ligation Buffer v3	30 μ L
Adapter Ligase v3	5 μ L
总体积	100 μ L

! 为减少接头自连，请先将 Adapter 加入反应体系中，再加入 Adapter Ligation Buffer v3 和 Adapter Ligase v3。

! 如果单次实验样本数量较多，需要配制预混液，请不要将 Adapter 加入预混液中。请先将 Adapter 加入反应体系中，再加入 Adapter Ligation Buffer v3 和 Adapter Ligase v3 的预混液，可减少接头自连。

3.5 使用移液器吸打混匀（避免剧烈振荡混匀），瞬时离心。

3.6 设置 PCR 仪参数如下，将 PCR 管置于 PCR 仪上，运行程序：

温度	时间
关闭热盖或不加盖	
20 $^{\circ}$ C	15 min
4 $^{\circ}$ C	Hold

3.7 程序结束后，立即进行下一步反应。

! 此步骤为不可暂停步骤，完成后请立即进行下一步。

STEP 4 连接产物纯化

实验备注区

需要使用到的试剂:

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

需要使用到的仪器:

- 涡旋振荡器
- 微型离心机
- 磁力架

! 此步骤描述为一轮磁珠纯化, 如需采用片段双筛分选, 可参考附录二。

- 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 结束后的 100 μL 反应体系中加入 X μL 体积的磁珠。吸打或涡旋混匀, 室温静置 5 min。

STEP 3 中使用的接头	磁珠体积 X μL
Adapter (for Illumina)	70 μL
Adapter (for MGI DI)	55 μL
Adapter (for MGI SI)	55 μL

! Illumina 和 MGI 接头结构存在差异, 连接产物纯化时应加入不同体积比例的磁珠。

- 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 μL 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 μL 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 μL 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 22 μL 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 20 μL 上清液, 转移到新的 PCR 管中, 做好标记。

STEP 5 PCR 扩增

实验备注区

需要使用到的试剂：

- UDI Primer 或 TPE Primer
- PCR Master Mix

需要使用到的仪器：

- 涡旋振荡器
- 微型离心机
- PCR 仪

- 5.1 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。
- 5.2 提前将试剂盒中 UDI Primer 或 TPE 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。
- 5.3 在冰盒上配制 PCR 反应体系（请记录好所使用的 Index 号）：

试剂	预混 Index 体积	非预混 Index 体积
来自 STEP 4 反应结束的产物	20 μ L	20 μ L
PCR Master Mix	25 μ L	25 μ L
UDI Primer N (10 μ M each)	5 μ L	/
TPE 1.0 Primer (20 μ M, for MGI)	/	2.5 μ L
TPE 2.0 Indexed Primer N (20 μ M, for MGI)	/	2.5 μ L
总体积	50 μ L	50 μ L

- 5.4 使用移液器吸打混匀（避免剧烈振荡混匀），瞬时离心。
- 5.5 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	DNA 起始量	PCR 循环数 (1.5 μ g 以上文库产量)	
				连接后纯化	连接后做片段双筛
热盖温度 105°C					
98°C	1 min	1	500 ng	3 ~ 4	4 ~ 5
98°C	20 s	N cycles	200 ng	4 ~ 5	5 ~ 6
60°C	30 s		100 ng	5 ~ 6	6 ~ 7
72°C	30 s		50 ng	6 ~ 7	7 ~ 8
72°C	2 min		20 ng	8 ~ 9	不推荐
72°C	2 min		10 ng	9 ~ 10	不推荐
4°C	Hold	1	5 ng	10 ~ 11	不推荐



以上循环数适用于完整、无降解的 gDNA。对于降解的 gDNA、FFPE DNA，建议适当增加 2~3 个扩增循环。

STEP 6 PCR 扩增产物纯化

实验备注区

需要使用到的试剂：

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

需要使用到的仪器：

- 涡旋振荡器
- 微型离心机
- 磁力架

- 6.1 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。
- 6.2 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。
- 6.3 在 STEP 5 完成后的 50 μ L 反应体系中加入 1 倍体积 (50 μ L) 的磁珠，吸打或涡旋混匀，室温静置 5 min。
- 6.4 瞬时离心，将 PCR 管置于磁力架上 3 min，待溶液澄清。
- 6.5 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。
- 6.6 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。
- 6.7 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。
- 6.8 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。
- 6.9 加入 30 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。
- 6.10 瞬时离心，将 PCR 管置于磁力架上 2 min，待溶液澄清。
- 6.11 用移液器吸取 28 μ L 上清液，转移到新的 PCR 管中，做好标记。
- 6.12 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。
- 6.13 取 1 μ L 文库使用片段分析仪进行文库片段长度检测。

实验结束!

附录一 磁珠法去除 EDTA

需要使用到的试剂：

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

需要使用到的仪器：

- 涡旋振荡器
- 微型离心机
- 磁力架

1. 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；将已经平衡至室温的纯化磁珠，涡旋混匀后备用。
2. 根据要纯化的 DNA 样本的体积，在新的离心管中加入 2 倍体积的磁珠（如样本有 50 μL ，则加入 100 μL 磁珠）。
3. 在磁珠中加入 DNA 样本，吸打或涡旋混匀，室温静置 5 min。
4. 瞬时离心，将 PCR 管置于磁力架上 3 min，待溶液澄清。
5. 保持 PCR 管在磁力架上，小心移弃上清，向 PCR 管内加入 200 μL 80% 乙醇溶液，静置 30 s。
6. 保持 PCR 管在磁力架上，移弃上清，再次向 PCR 管内加入 200 μL 80% 乙醇溶液，静置 30 s，移弃上清。
7. 盖上管盖，瞬时离心，将残留的乙醇离心至管底，将 PCR 管置于磁力架上，小心使用 10 μL 移液器移弃底部残留的乙醇，注意不要吸到磁珠。
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。
9. 加入 42 μL 的 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。
10. 瞬时离心，将 PCR 管置于磁力架上 2 min，待溶液澄清。
11. 用移液器吸取 40 μL 上清液，转移到新的离心管中，做好标记。
12. 取 1 μL 文库使用 Qubit dsDNA HS Assay Kit 进行样本浓度检测，记录样本浓度。

附录二 连接产物片段双筛分选

! 双筛分选步骤，会损失较多的原始 DNA 片段，因此，请慎重选择。对于严重降解的 gDNA、FFPE DNA，或 DNA 起始量低于 50 ng 时，不建议选择该步骤。

请根据预期插入片段长度，选择合适的酶切时间，使片段化产物的平均长度与预期片段长度一致，提高原始 DNA 分子得率。

片段双筛分选条件 (Illumina)

酶切时间	磁珠体积 V1	磁珠体积 V2	文库插入片段平均长度	测序数据插入片段平均长度
30 min	40 μL	20 μL	230 bp	200 bp
30 min	30 μL	20 μL	300 bp	250 bp
20 min	25 μL	20 μL	360 bp	300 bp
20 min	20 μL	15 μL	400~500 bp	350~400 bp

片段双筛分选条件 (MGI)

酶切时间	磁珠体积 V1	磁珠体积 V2	文库插入片段平均长度	测序数据插入片段平均长度
30 min	30 μL	20 μL	230 bp	200 bp
30 min	20 μL	20 μL	300 bp	250 bp
20 min	15 μL	20 μL	360 bp	300 bp
20 min	10 μL	15 μL	400~500 bp	350~400 bp

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. 提前从 4℃ 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。
3. 在 STEP 3 结束后的 100 μL 反应体系中加入 V1 体积的磁珠，吸打或涡旋混匀，室温静置 5 min。
4. 瞬时离心，将 PCR 管置于磁力架上 3 min，待溶液澄清。
5. 保持 PCR 管在磁力架上，小心使用移液器吸取上清液（注意一定不要吸到磁珠）至新的 PCR 管中。

! 此步骤保留上清，弃掉磁珠；为防止吸到磁珠，管子中可以残留 5 μL 液体。

6. 在新的 PCR 管里上清液中加入 V2 体积的磁珠，吸打或涡旋混匀，室温静置 5 min。
7. 保持 PCR 管在磁力架上，小心移弃上清，向 PCR 管内加入 200 μL 80% 乙醇溶液，静置 30 s。
8. 保持 PCR 管在磁力架上，移弃上清，再次向 PCR 管内加入 200 μL 80% 乙醇溶液，静置 30 s，移弃上清。
9. 瞬时离心，将 PCR 管置于磁力架上，小心使用 10 μL 移液器移弃底部残留的乙醇，注意不要吸到磁珠。
10. 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。
11. 加入 22 μL 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。
12. 瞬时离心，将 PCR 管置于磁力架上 2 min，待溶液澄清。
13. 用移液器吸取 20 μL 上清液，转移到新的 PCR 管中，做好标记。

如有任何疑问，请联系：

🌐 www.igenetech.com/support ☎ 010-89146623 ✉ support@igenetech.com

实验备忘录



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8月
文档号：PROT230803

官方微信

