

## ShortSeq Library Prep Kit

### 使用说明书

货号/规格: K009-A (24 rxns) ; K009-B (96 rxns) ; 试用装 (6 rxns)

#### 产品简介

本试剂盒针对 PCR 产物、质粒等短序列 DNA 样品提供了便捷、极速的 DNA Illumina 文库构建方案, 仅需三个简单操作步骤, 大大缩短了建库的时间、减少了繁琐步骤造成的误差。可以对 150-30,000 bp 的 PCR 产物或质粒进行快速建库, 无需进行引物合成设计, DNA 可以是多重 PCR 扩增产物。

#### 储存条件及有效期

所有试剂均应保存于 -20°C, ShortSeq Buffer B 在低温下会有晶体析出, 属正常现象, 应平衡至室温完全溶解后使用, 产品有效期为 24 个月。

#### 试剂盒组分

组分	24 rxns	96 rxns
ShortSeq Mix	450 µl	2 × 960 µl
ShortSeq Buffer B	50 µl	400 µl
2 × HIFI Library PCR Master Mix	240 µl	960 µl
Primer Mix*	24 µl	96 µl

\*若有多个样本, 则推荐使用 GENEKRAS 接头引物组合, 本试剂盒提供一套含 index 的引物。

备注: 分选磁珠推荐使用 #NC1011 GDSPure DNA Selection Magbeads 或 AMPure XP beads。

#### 实验步骤

##### 一、片段化

ShortSeq Library Prep Kit 试剂盒实验需要 2 µl 浓度在 0.1-5 ng/µl 之间的样品。

(1) 在 PCR 管中, 按下表体系配置 PCR 反应体系:

组分	加样量
ShortSeq Mix	18 µl
PCR 片段/质粒 0.1-5 ng/µl	2 µl

(2) 用移液枪小心吹打 10 次混匀, 短暂离心将所有液体移至管底。

(3) 在热循环仪中运行以下程序:

热盖	99°C
55°C	10 min
4°C	Hold

##### 二、终止反应

在 1) 片段化 20 µl 反应体系中加入 2 µl ShortSeq Buffer B 混匀, 短暂离心将所有液体移至管底, 并在 PCR 仪器进行如下反应:

热盖	99°C
55°C	5 min
4°C	Hold

##### 三、PCR 反应

(1) 在新的 PCR 管中, 按下表体系配置 PCR 反应体系:

组分	体积/反应
2 × HIFI Library PCR Master Mix	10 µl
Primer Mix	2 µl
第二步产物	4 µl
ddH <sub>2</sub> O	To 20 µl

(2) 用移液枪小心吹打 10 次混匀, 短暂离心将所有液体移至管底。

(3) 将反应管置于 PCR 仪器中, 运行如下反应程序:

95 °C	3 min	1 cycle
95 °C	15 s	10-20 cycles
58 °C	15 s	
72 °C	25 s	
4 °C	∞	-

#### 四、测序说明

Primer Mix/N501N701

##### 测序工厂表格举例：上海明码

子文库名称*	index i7*	index i5* (适用于 Nova1.5 版本试剂, 与 index 说明书上适用于 HiSeq 3000, 4000, NextSeq®, MiniSeq®, HiSeq X10 的平台 i5 index 信息相同)
N501N701	TAAGCGA	GCGATCTA

#### 注意事项

- 1、本试剂盒采用转座酶，建库效率跟试剂比例、DNA 投入量非常敏感，请准确按量加样。
- 2、ShortSeq Buffer B 可以保存常温，如果在低温保存，可能出现沉淀，在室温解冻后混合即可使用。
- 3、其他试剂-20℃长期保存，反复冻融 10 次以下影响甚微。短期（一个月）可以存放 4℃。
- 4、转座酶建库敏感，注意防止细菌及 DNA 污染。

本品仅供科学研究使用