



CWseq Onestep DNA Frag And ER Reagent

一步法片段化/末修/加A

目录号： CW3046S (24 rxns)

 CW3046M (96 rxns)

保存条件： -20℃保存，干冰运输。

产品内容

Component	CW3046S	CW3046M
FER Buffer	240 μ L	960 μ L
FER Enzyme Mix	120 μ L	480 μ L

产品简介

CWseq Onestep DNA Frag And ER Reagent是针对Illumina与MGI高通量测序平台开发的新一代酶切修复试剂，可完成一步法片段化/末修/加A，本产品包含FER Enzyme Mix及FER Buffer，可实现片段化、末端修复一管完成，避免了繁琐的超声过程和对仪器的依赖，操作方便。可实现对不同DNA样本进行高效快速的片段化、末端修复及dA尾添加，应用于下游建库，具有偏好性小、酶切修复效果稳定等优点，文库转化效率更高。可应用于0.1 ng-1 μ g基因组DNA、PCR扩增产物、FFPE等不同来源的样本的片段化、末端修复和加A反应。

使用方法

1. 将FER Enzyme Mix、FER Buffer融化后用手指轻弹混匀，短暂离心收集置于冰上。
2. 向200 μ L PCR管中加入以下试剂（在冰上配置体系，配置完成后立即进行反应）：

组分	体积
Double-stranded DNA	1 ng-500 ng
FER Buffer	10 μ L
FER Enzyme Mix	5 μ L
NF Water	Up to 50 μ L
Total	50 μ L

注：如果DNA溶解于含EDTA的溶液或反应体系EDTA终浓度 ≥ 0.2 mM建议使用磁珠进行纯化后使用。

3. 轻弹混匀，短暂离心收集置于冰上，立即进行PCR反应。
4. 打断修复程序参见下表（PCR仪热盖温度70 $^{\circ}$ C）

步骤	温度	时间
1	4 $^{\circ}$ C	1 min
2	32 $^{\circ}$ C	5-30min（可调）
3	65 $^{\circ}$ C	30 min
4	4 $^{\circ}$ C	Hold

片段化时间根据目标片段大小进行调节，具体参见下表。

片段化时间与预期插入片段大小之间的关系

插入片段大小	32 $^{\circ}$ C温育时间（min）			
	100-200 bp	200-300 bp	300-400 bp	400-500 bp
100 ng DNA	20-30 min	15-20 min	10-15 min	5-10 min

注意：

- 1) 根据预期插入片段大小选择32 $^{\circ}$ C下温育时间，片段大小随反应时间的延长而变短。
- 2) 如结果和预期片段大小有少量偏差可酌情调整反应时间，可在推荐反应时间基础上加减3-5min。
- 3) FFPE及其他降解样本依据其质量适当减少片段化时间。
- 4) 片段化修复酶对时间反应灵敏，建议确定条件后精确控制反应时间。
- 5) 此步骤完成后搭配康为CW2701进行接头连接无需进行纯化，搭配其他品牌连接酶，需要测试体系Buffer是否兼容。